

Přednáška č. 7
Znečištění ovzduší, PAU

Znečištění ovzduší

Table 4.2 Principal Air Pollutants, Sources, and Effects

Pollutant	Sources	Significance
Sulfur oxides, particulates	Coal and oil power plants Oil refineries, smelters Kerosene heaters	Main component of acid deposition Damage to vegetation, materials Irritating to lungs, chronic bronchitis
Nitrogen oxides	Automobile emissions Fossil fuel power plants	Pulmonary edema, impairs lung defenses Important component of photochemical smog and acid deposition
Carbon monoxide	Motor vehicle emissions Burning fossil fuels Incomplete combustion	Combines with hemoglobin to form carboxyhemoglobin, poisonous Asphyxia and death
Carbon dioxide	Product of complete combustion	May cause "greenhouse effect"
Ozone (O ₃)	Automobile emissions Photochemical smog	Damage to vegetation Lung irritant
Hydrocarbons, C _x H _y	Smoke, gasoline fumes Cigarette smoke, industry Natural sources	Contributes to photochemical smog Polycyclic aromatic hydrocarbons, lung cancer
Radon	Natural	Lung cancer
Asbestos	Asbestos mines Building materials Insulation	Asbestosis Lung cancer, mesothelioma
Allergens	Pollen, house dust Animal dander	Asthma, rhinitis
Arsenic	Copper smelters	Lung cancer

„Tuhle ten hoch co ho chce dát obec do učení... Dyby jako obec chtěla aby se vyučil náramně pěknému řemeslu v kominickém závodě,“ pokračoval pan Gamfield, „tak já zrovinka učedníka potřebuju a hnedka bych si ho vzal.“

„Je to šeredné řemeslo,“ prohodil pan Limbkins.

„Kolikrát se už malí chlapci v taky v komíně udusili,“ připomenul jiný pán.

„To jen proto, že mistr slámu namočil, než ji podpálil v komíně, aby dostal kluka dolu,“ odpověděl Gamfield. „To je pak jen samej kouř a žádněj plamen, kouř ho jen uspí a to maj právě kluci rádi. Není nad pořádněj fajr, když je jeden chce dostat dolů natotata. A je to taky milosrdný, páni, anžto když kluk v komíně uvízne, tak mu připíct nohy, hned ho to popožene, aby se koukal vyškrábat ven.“

Charles Dickens, Oliver Twist, 1837, Kap. 3





Sir John Percivall Pott (1714-1788)

Chirurgical Works (1775):

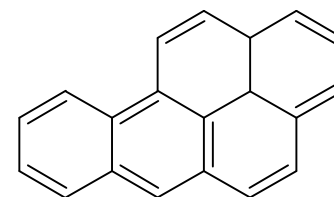
neobvykle vysoký výskyt nádorů šourku u londýnských kominíků – 1. publikovaný popis nádorového onemocnění souvisejícího s povoláním

od 80. let 19. století začal být popisován výskyt nádorů kůže a šourku u dělníků pracujících v Anglii a Německu ve výrobě uhelného dehtu a parafínu – souvislost s expozicí uhelném dehtu?

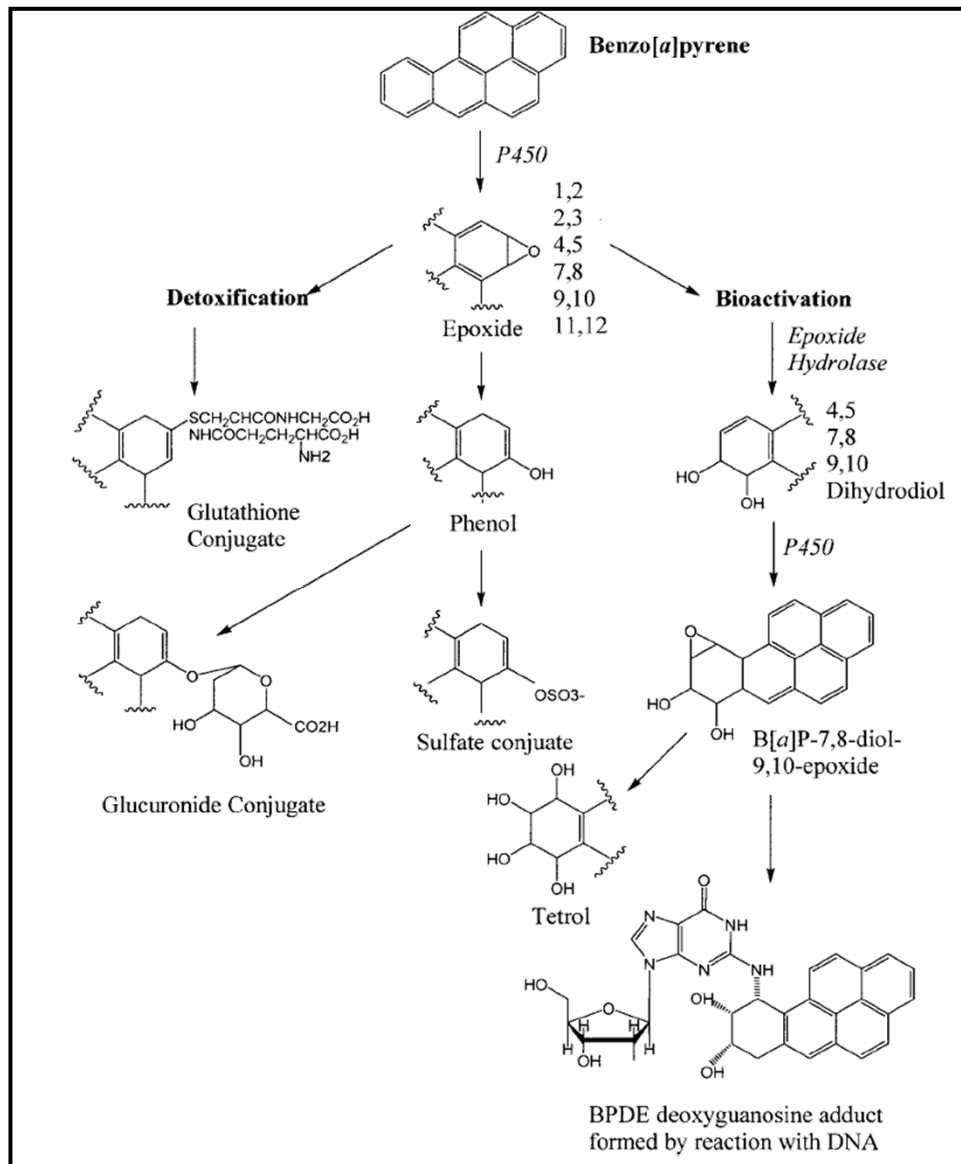
1915 – Katsusaburo Yamagiwa – dlouhodobá aplikace do uší králíků nebo na pokožku myši způsobuje vznik nádorů

1922 – Sir Ernest Kennaway – aktivní karcinogenní látka je pravděpodobně polycyklický aromatický uhlovodík; syntetizovali řadu PAU a v roce 1930 poprvé popsali dibenzo[*a,h*]anthracen jako účinný syntetický karcinogen

1933 – purifikace účinného karcinogenu z uhelného dehtu – benzo[*a*]pyren



Metabolická aktivace BaP je nezbytná pro jeho karcinogenní aktivitu

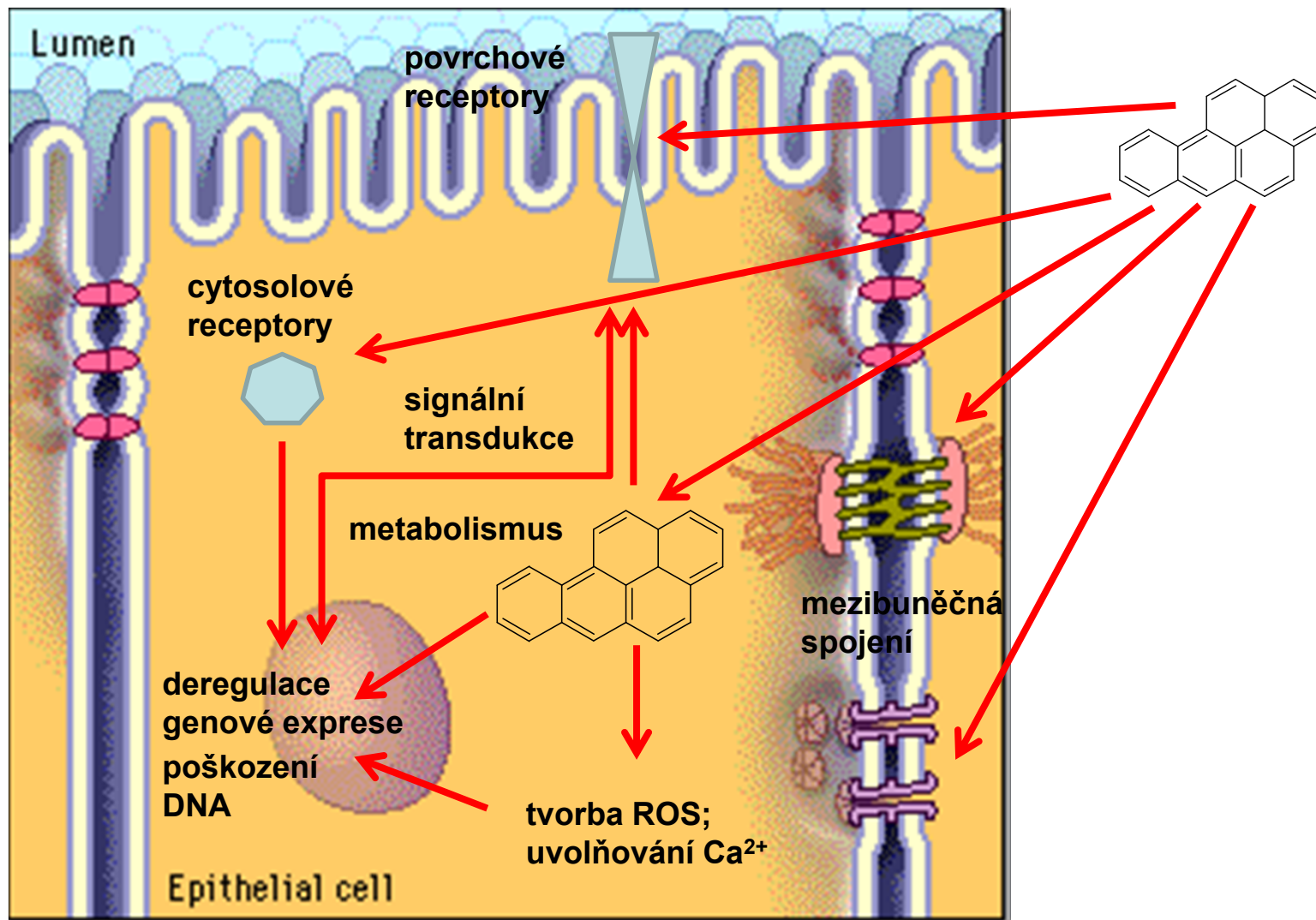


Baird et al., *Env Mol Mutagenesis* 2005, 45:106-14

Mutagenita není jediný a hlavní mechanismus působení PAU na organismus

- většina PAU vykazuje jen velmi nízkou mutagenitu;
- spalovací procesy generují velké množství různých typů PAU;
- kouření či znečištěné ovzduší má řadu negativních dopadů na zdraví (respirační onemocnění, kardiovaskulární onemocnění, negativní dopady na reprodukci) – karcinogenita je jedním z mnoha účinků asociovaných se znečištěným ovzduším (tabákovým kouřem);
- samo karcinogenní působení PAU nesouvisí jen s jejich schopností iniciovat nádorové buňky – jsou to kompletní karcinogeny schopné přispívat k nádorové promoci;

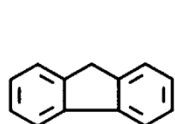
PAU a buněčná signalizace



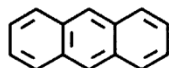
Ah receptor (AhR) zprostředkovává toxické působení PAU, ale i řady halogenovaných aromatických sloučenin:

- za nádorově promoční aktivitu PAU je zodpovědná jejich schopnost aktivovat receptor pro polyaromatické uhlovodíky (Ah receptor);
- výsledky studií publikovaných v průběhu poslední dekády naznačují, že tento protein nejen reguluje expresi enzymů podílejících se na metabolické aktivaci PAU, ale zároveň může hrát významnou roli v procesech buněčné proliferace, diferenciace a mezibuněčné komunikace;
- PAU mohou prostřednictvím AhR, ale i ovlivněním dalších jaderných receptorů ($ER\alpha$) ovlivnit řadu signálních drah v buňce;

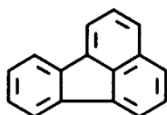
Polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty



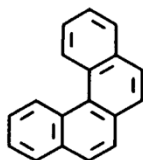
Fluorene



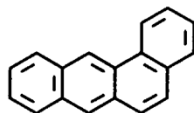
Anthracene



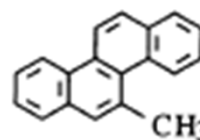
Fluoranthene



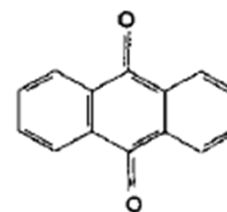
Benzo[c]phenanthrene



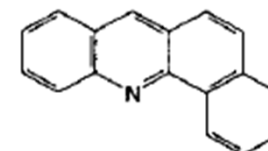
Benz[a]anthracene



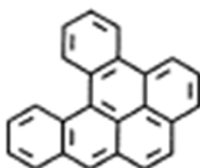
5-Methylchrysene



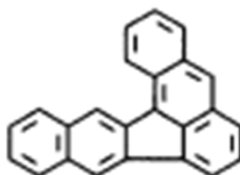
Anthraquinone



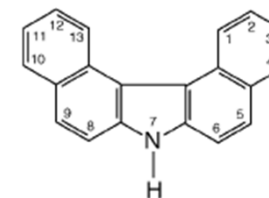
Benz[c]acridine



Dibenzo[a,l]pyrene



Dibenzo[a,k]fluoranthene



DBC

Polycyklické aromatické uhlovodíky a jejich deriváty

- vedlejší produkty neúplných spalovacích procesů;
- různorodá struktura vede k různým mechanismům účinku;
- nízkomolekulární PAU volatilní sloučeniny - v plynné i pevné fázi, nízká mutagenita, vysoké koncentrace;
- PAU s vyšší mol. hmotností – převážně adsorbované na částice polétavého prachu, některé z nich vysoce mutagenní, jiné bez výrazných genotoxických účinků, ale poměrně účinné ligandy Ah receptoru;
- metylované a další deriváty – výrazně odlišné profily toxicity;

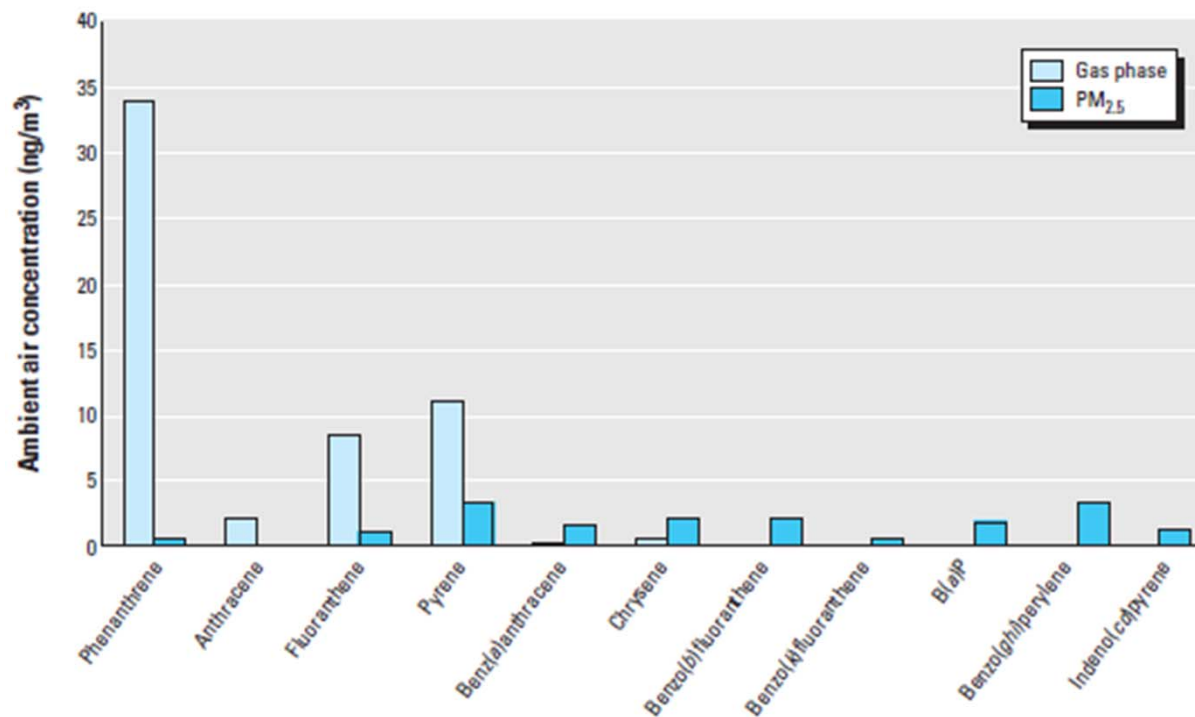
PAU

Table 1. IARC evaluations of certain complex mixtures and occupational exposures involving exposure to PAH compounds.^a

Mixture/exposure	IARC classification			
	Group 1: carcinogenic to humans	Group 2A: probably carcinogenic to humans	Group 2B: possibly carcinogenic to humans	Group 3: not classifiable
Bitumen				X
Bitumen extracts			X	
Carbon black				X
Carbon black extracts			X	
Coal dust				X
Coal tar pitches	X			
Coal tars	X			
Creosotes		X		
Crude oil				X
Diesel fuels				
Light				X
Marine			X	
Fuel oils				
Heavy			X	
Light				X
Gasoline			X	
Jet fuel				X
Mineral oils				
Untreated	X			
Mildly treated	X			
Highly refined				X
Petroleum solvents				X
Shale oils	X			
Soots	X			
Diesel exhausts		X		
Gasoline exhausts			X	
Tobacco smoke	X			
Aluminum production	X			
Coal gasification	X			
Coke production	X			
Petroleum refining		X		

- PAU jsou významnou složkou karcinogenních směsí toxických látek;

PAU



- MW určuje distribuci PAU v plynné a pevné fázi;

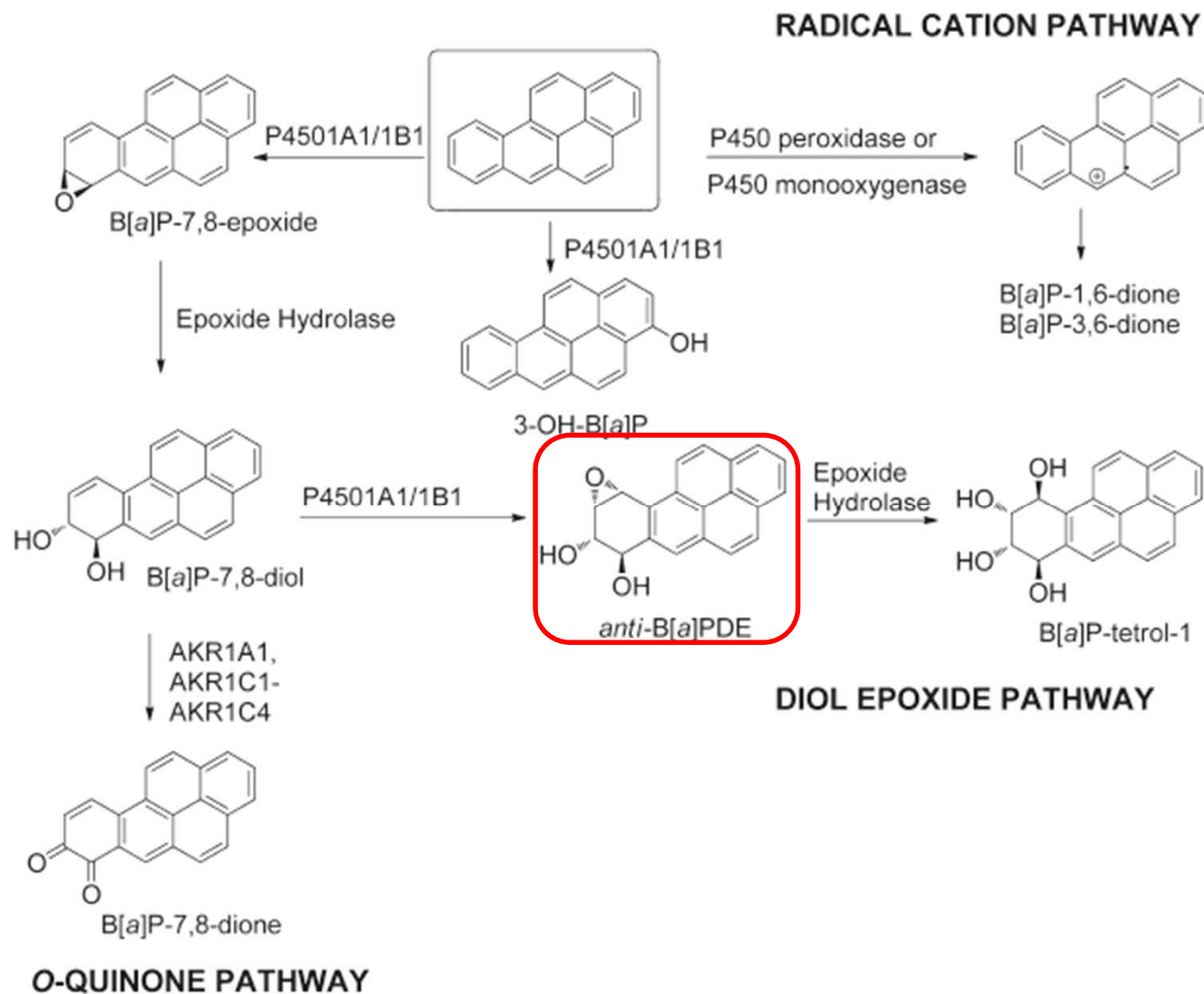
Toxicita PAU

- **karcinogenita;**
- reprodukční efekty a modulace endokrinních funkcí;
- COPD?
- kardiovaskulární onemocnění?
- přímé toxické efekty na bezobratlé v půdě a sedimentech;

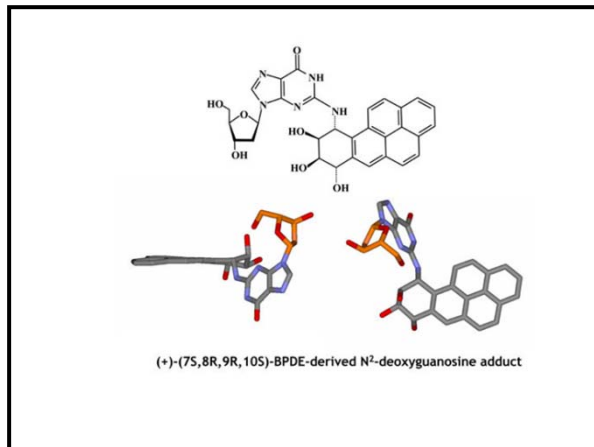
Mechanismy karcinogenity PAU

- genotoxicita – tvorba stabilních DNA aduktů;
- oxidativní stres – tvorba ROS;
- aktivace Ah receptoru a další přímé účinky na buněčné receptory;
- modulace mezibuněčné komunikace;

Bioaktivace PAU



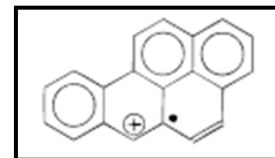
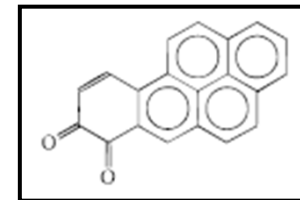
BPDE napadá báze DNA a vytváří kovalentní DNA adukty



narušení replikace DNA spojené s dalším poškozením – delece bází, DNA zlomy, chromozomální aberace;

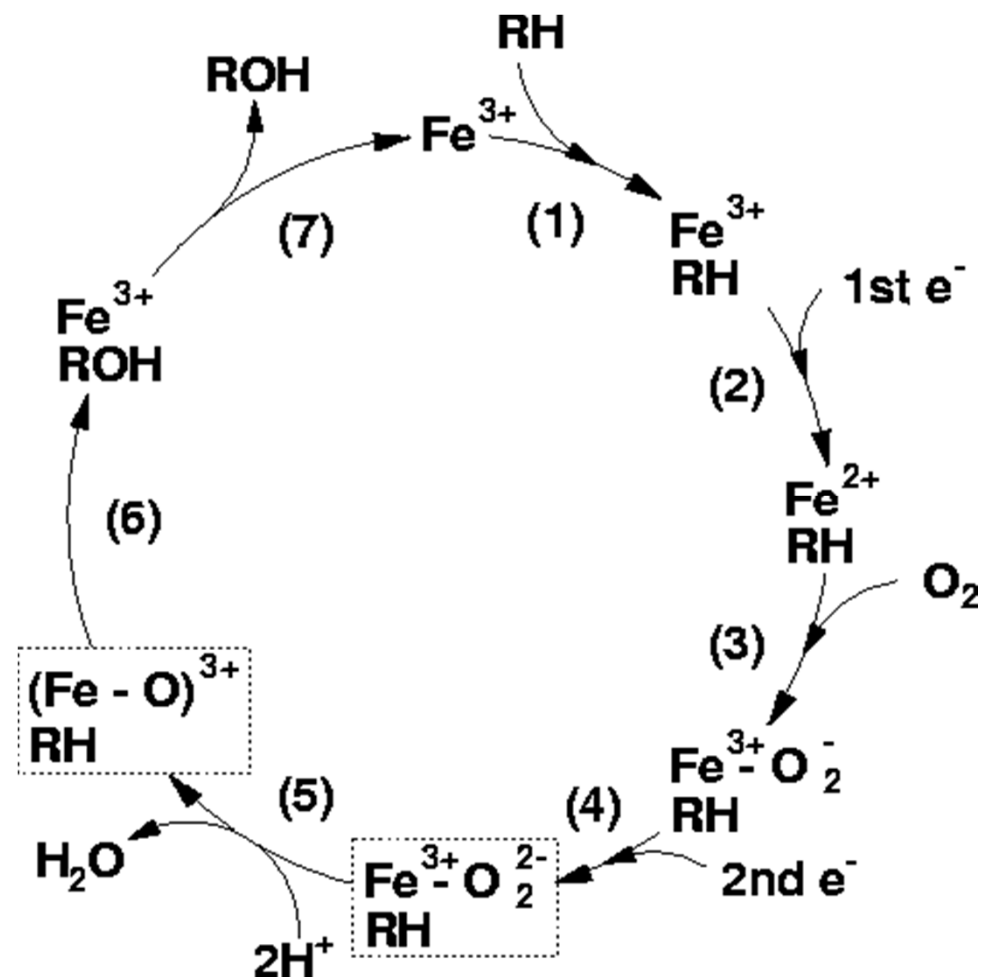
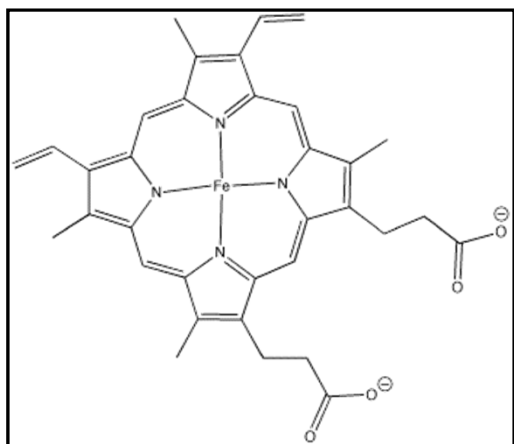
+ oxidativní poškození DNA – metabolity PAU a zvýšená produkce superoxidu;

+ tvorba radikálových kationů působením peroxidáz

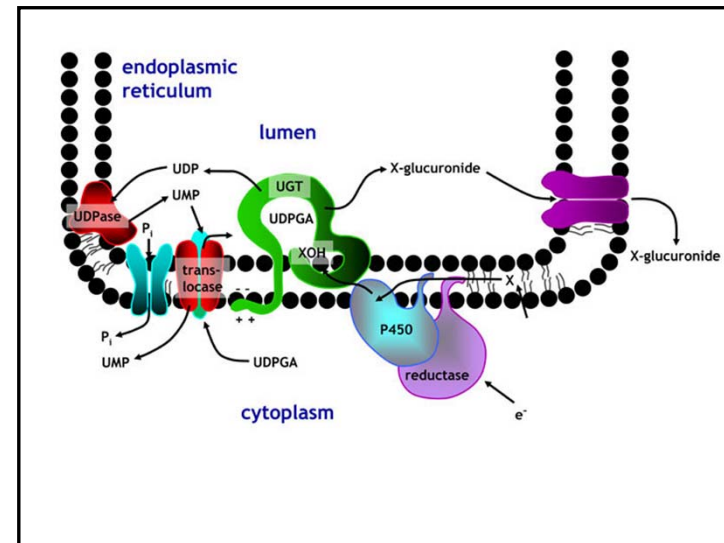
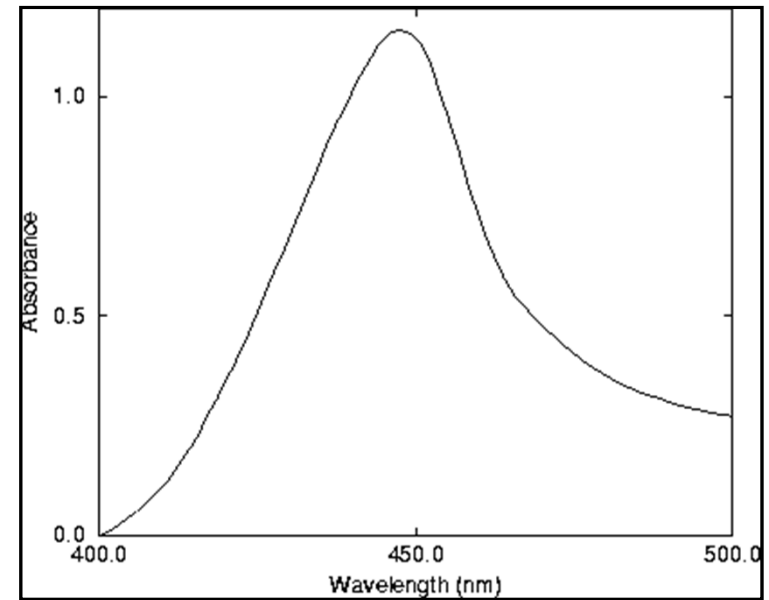
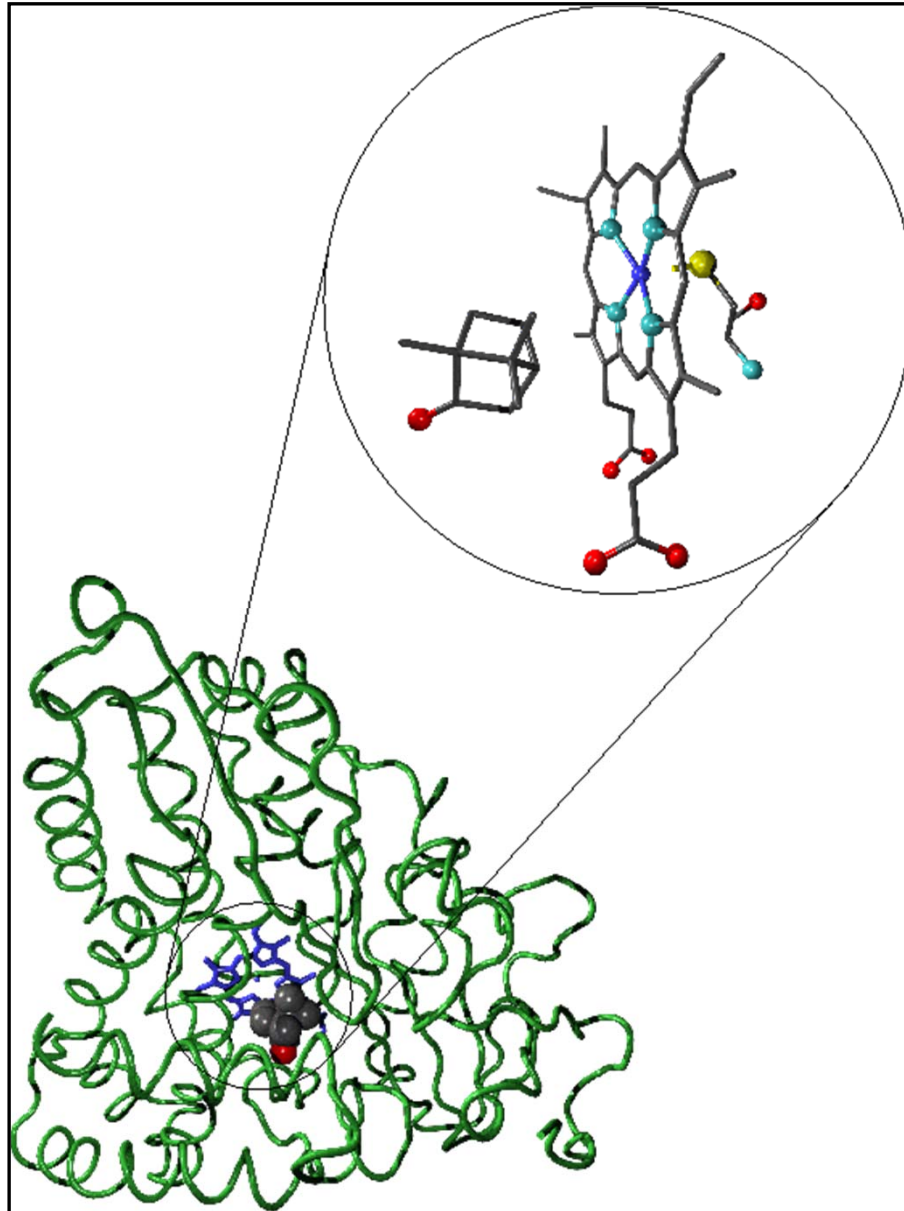


Cytochromy P450

Cytochromy P450 (CYP) =
velká skupina enzymů
obsahujících hemovou
skupinu – metabolismus
řady endogenních substrátů
a xenobiotik;



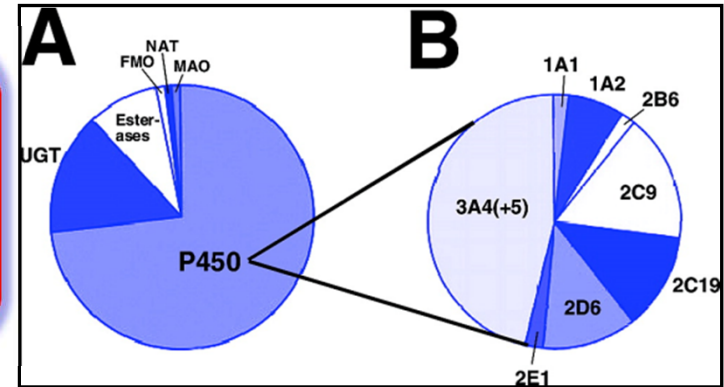
Cytochrome P450



Cytochromy P450

Table 2 | Functions of human CYP enzymes

Family	Number of subfamilies	Number of genes	Substrates/function
CYP1	2	3	Metabolism of eicosanoids* and xenobiotics; in addition, CYP1A2 metabolizes melatonin, oestrogen, uroporphyrin and ~24 drugs
CYP2	13	16	Metabolism of eicosanoids*, xenobiotics and many drugs
CYP3	1	4	Metabolism of eicosanoids*, xenobiotics and many drugs
CYP4	6	12	Metabolism of eicosanoids*, xenobiotics and few drugs
CYP5	1	1	Thromboxane A ₂ synthase
CYP7	2	2	Cholesterol, bile acid synthesis
CYP8	2	2	Prostacyclin synthase, bile acid synthesis
CYP11	2	3	Steroidogenesis
CYP17	1	1	Steroid 17-hydroxylase, 17/20-lyase
CYP19	1	1	Oestrogen aromatization
CYP20	1	1	Expressed in gastrula, neural patterning and somitogenesis, organogenesis, fetus and nasopharynx
CYP21	1	1	Steroid 21-hydroxylase
CYP24	1	1	Vitamin D ₃ 24-hydroxylase
CYP26	3	3	Retinoic acid hydroxylation
CYP27	3	3	Bile acid biosynthesis, vitamin D ₃ hydroxylations
CYP39	1	1	24-hydroxycholesterol 7-hydroxylase
CYP46	1	1	Cholesterol 24-hydroxylase in the central nervous system
CYP51	1	1	Lanosterol 14-demethylase



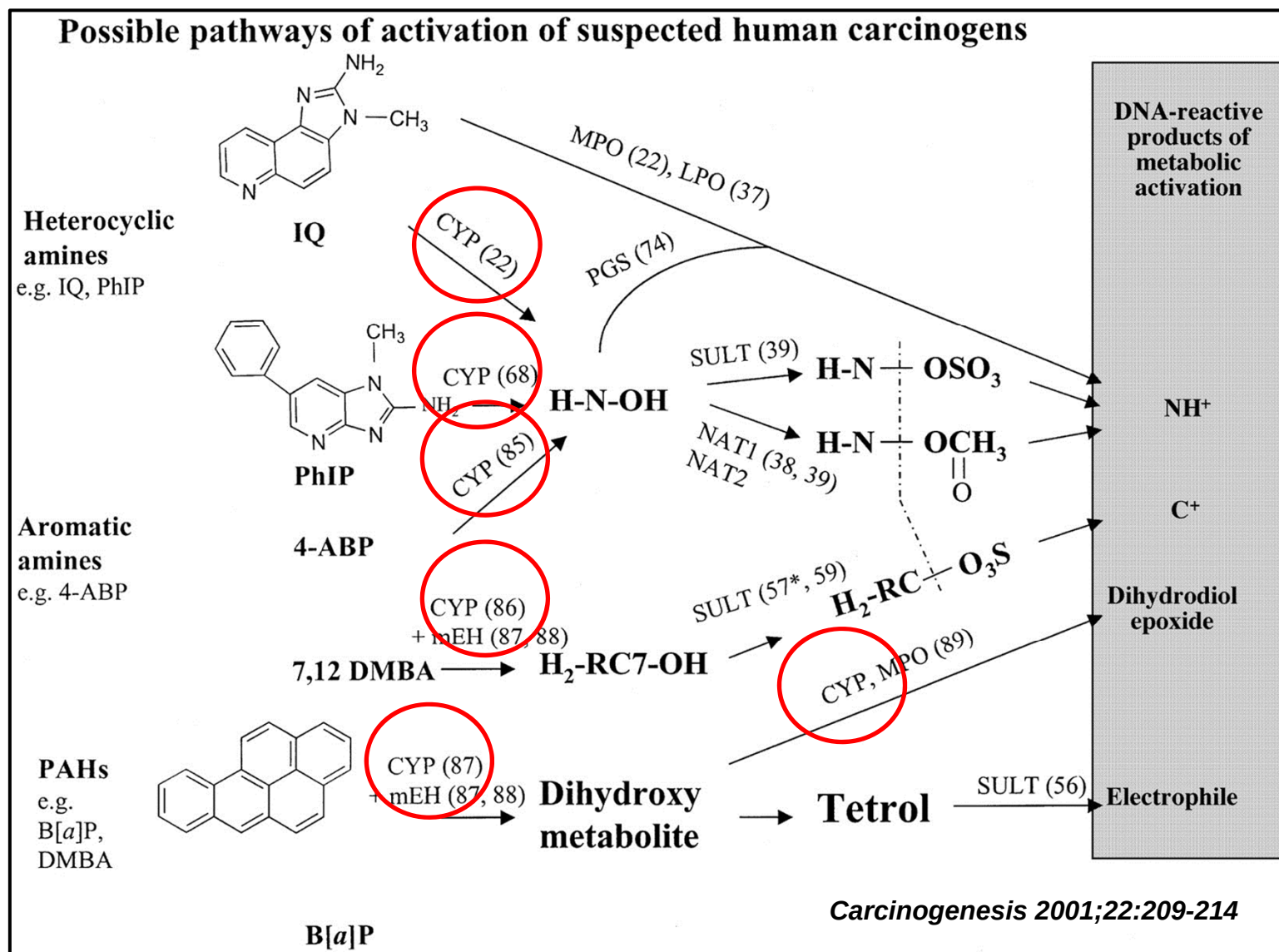
Box 2 | The CYP gene families

Cytochrome P450 (CYP) proteins are arranged into families and subfamilies, which are derived from per cent amino-acid sequence identity. Proteins that have roughly >40% sequence similarity are members of the same gene family, whereas those with >70% similarity are members of the same subfamily. The development and application of this delightfully logical system of nomenclature³ has eliminated the confusion that often plagues the naming of gene families and superfamilies. The fact that there are 20 CYP genes in *Mycobacterium tuberculosis* and seven in *Bacillus subtilis* emphasizes the likelihood that the CYP superfamily existed long before the prokaryote-eukaryote split some 2.1 billion years ago⁶⁵, and the earliest ancestor probably arose around the time that the partial pressure of oxygen increased dramatically on the planet. The CYP51 gene exists in bacteria, plants, fungi and animals, indicating that this was probably the first eukaryotic CYP gene. The human, mouse and rat genomes contain 57, 102 and 87 CYP genes, respectively². Orthologous Cyp genes between the mouse and rat generally show 90–92% sequence similarity, human CYP orthologues of rodent Cyp genes are usually 78–82% similar.

The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling pathways and environmental carcinogenesis

Daniel W. Nebert and Timothy P. Dalton

Cytochromy P450 a karcinogeneze

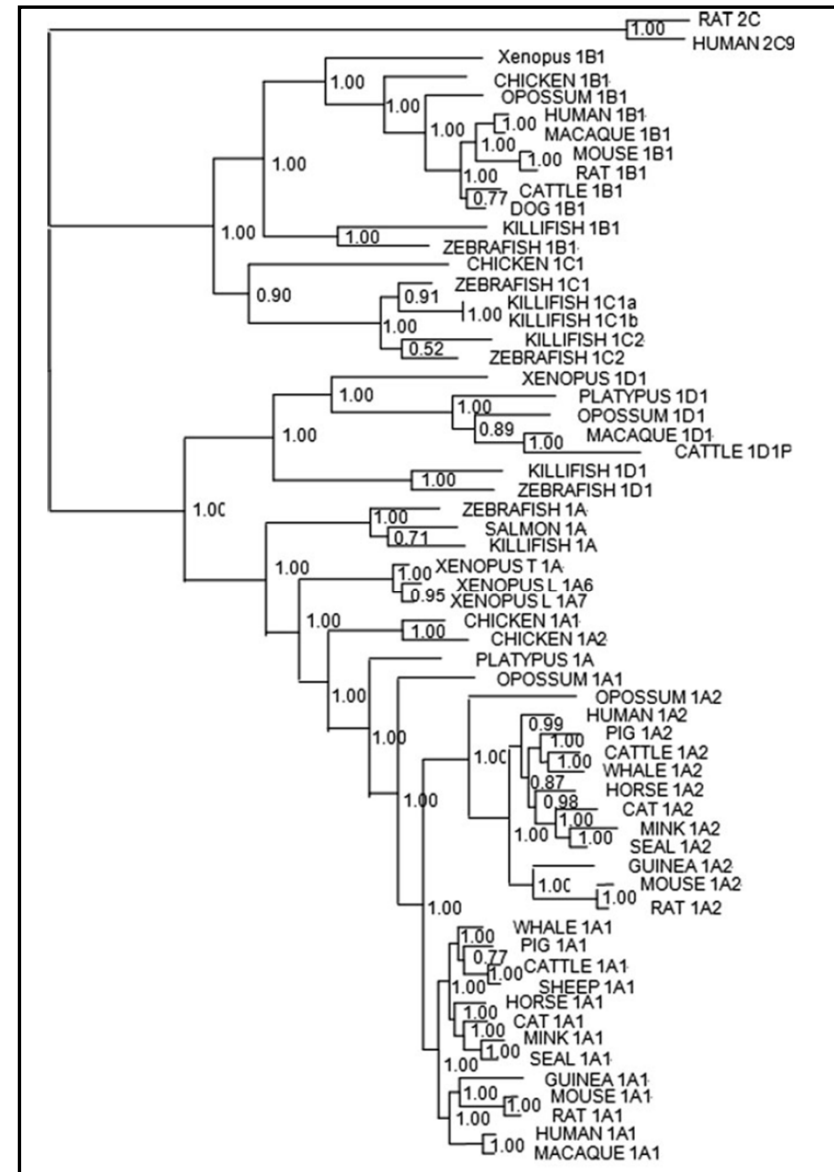


Cytochromy P450 rodiny 1

- CYP1A1
 - CYP1A2
 - CYP1B1
- metabolická aktivace
~ 50 % lidských
karcinogenů
- CYP1C1, 1C2 – ryby (ptáci?);
 - CYP1Dx – u většiny savců
identifikován pouze pseudogen;

Table 2 Precarcinogens metabolized by cytochromes P450	
Enzyme	Activation of carcinogens
CYP1A1	Polycyclic aromatic hydrocarbons: benzo(a)pyrene, dimethylbenz[a]anthracene, PhIP ^a
CYP1A2	Activation of aryl and heterocyclic amines in industrial settings and food mutagens: N-nitrosodimethylamine, 4-aminobiphenyl, 2-acetyl-amino-fluorene, N-nitrosodiethylamine, PhIP, IQ, aflatoxin B1
CYP1B1	Polycyclic aromatic hydrocarbons: benzo(a)pyrene, dimethylbenz[a]anthracene, benz[a]anthracene, 3-methylcholanthrene, DMBA, oestradiol

Oncogene (2006) 25, 1679–1691



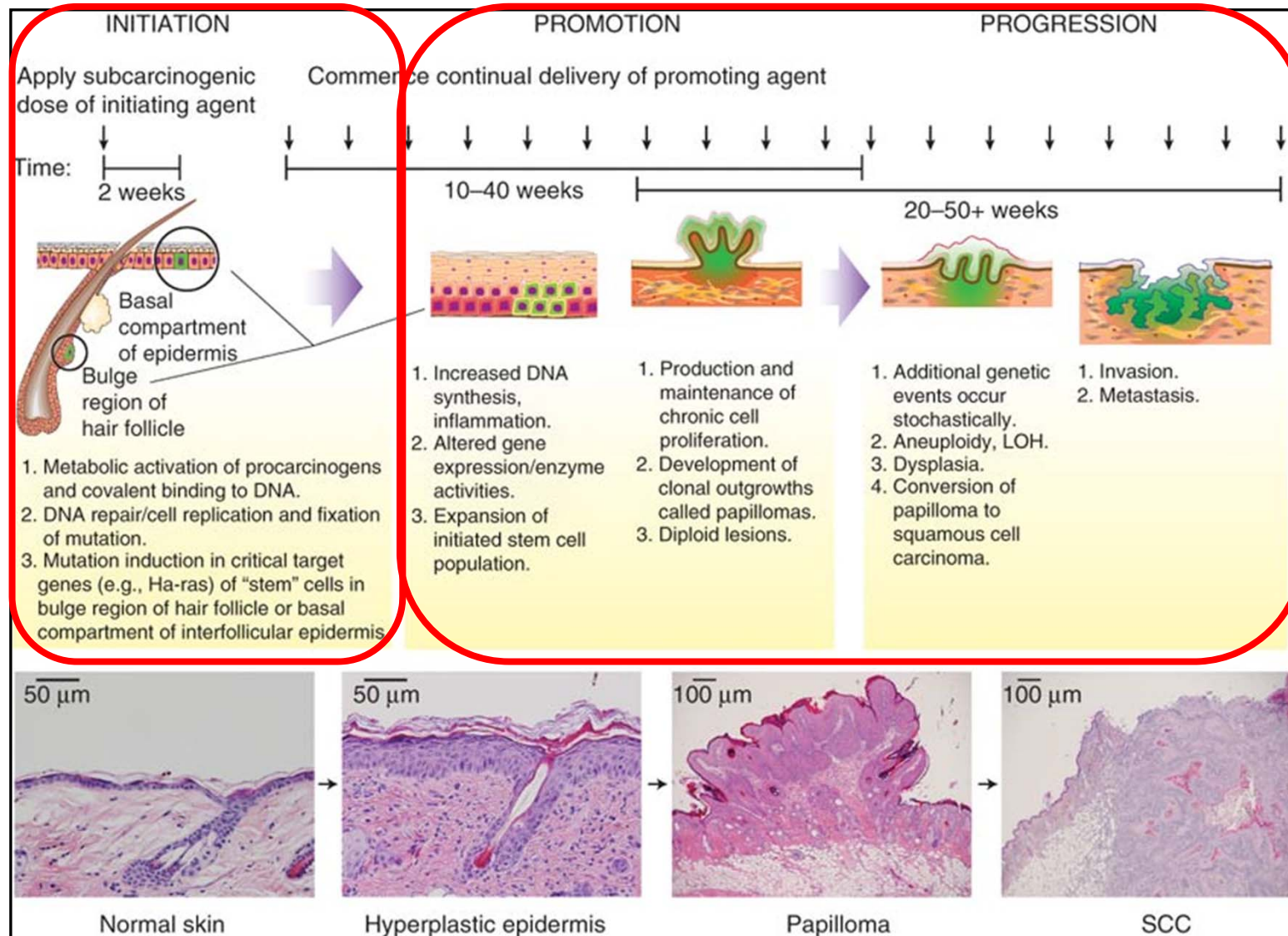
Mamm Genome

DOI 10.1007/s00335-010-9263-9

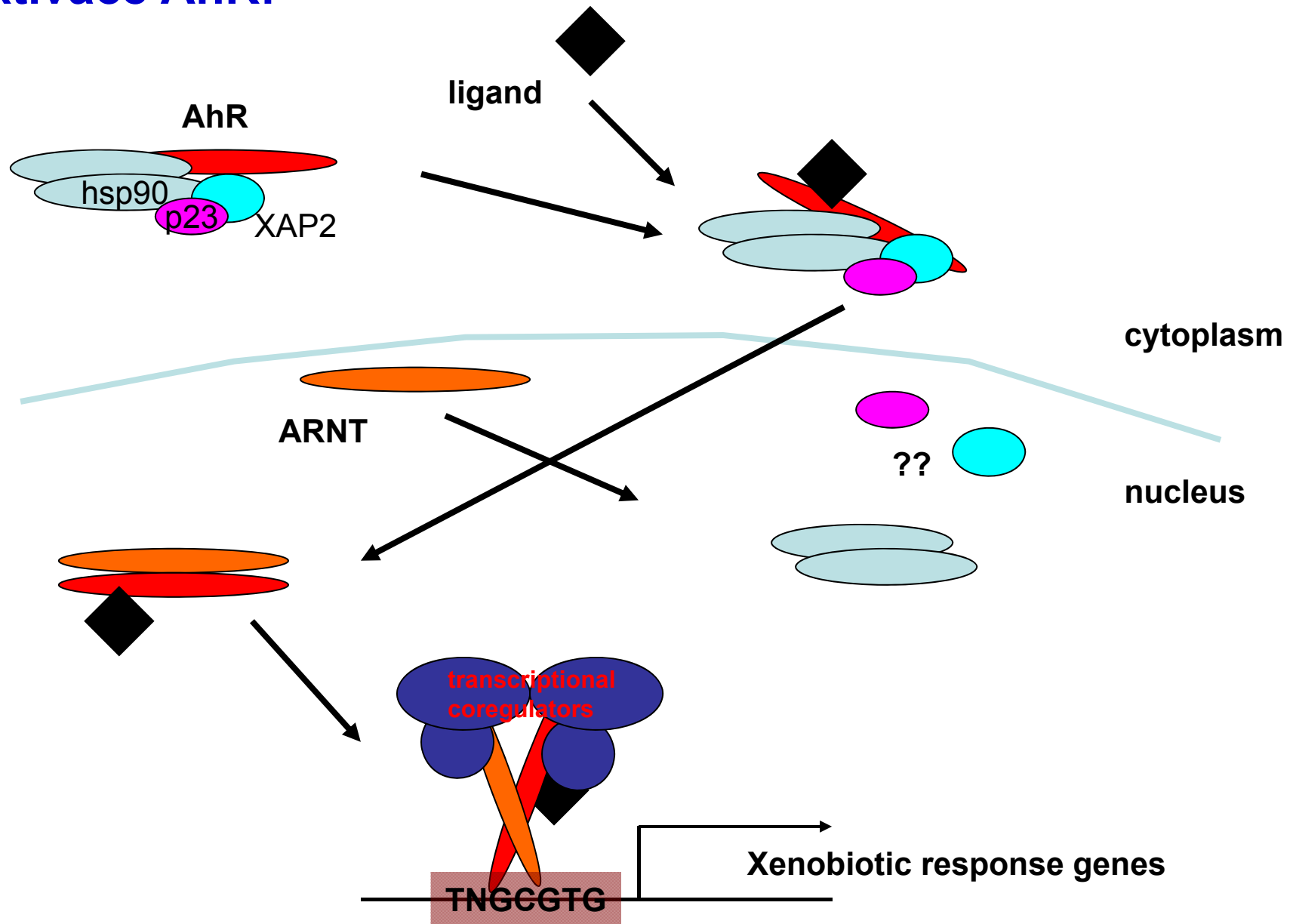
Mechanismy karcinogenity PAU

- genotoxicita – tvorba stabilních DNA aduktů → tvorba dalších typů poškození – např. dvouřetězcové zlomy DNA;
- mutace genů podílejících se na rozvoji nádorových onemocnění; ovlivnění DNA repair; ovlivnění stability genomu;

Chemická karcinogeneze jako vícestupňový proces



Aktivace AhR:



Geny regulované AhR

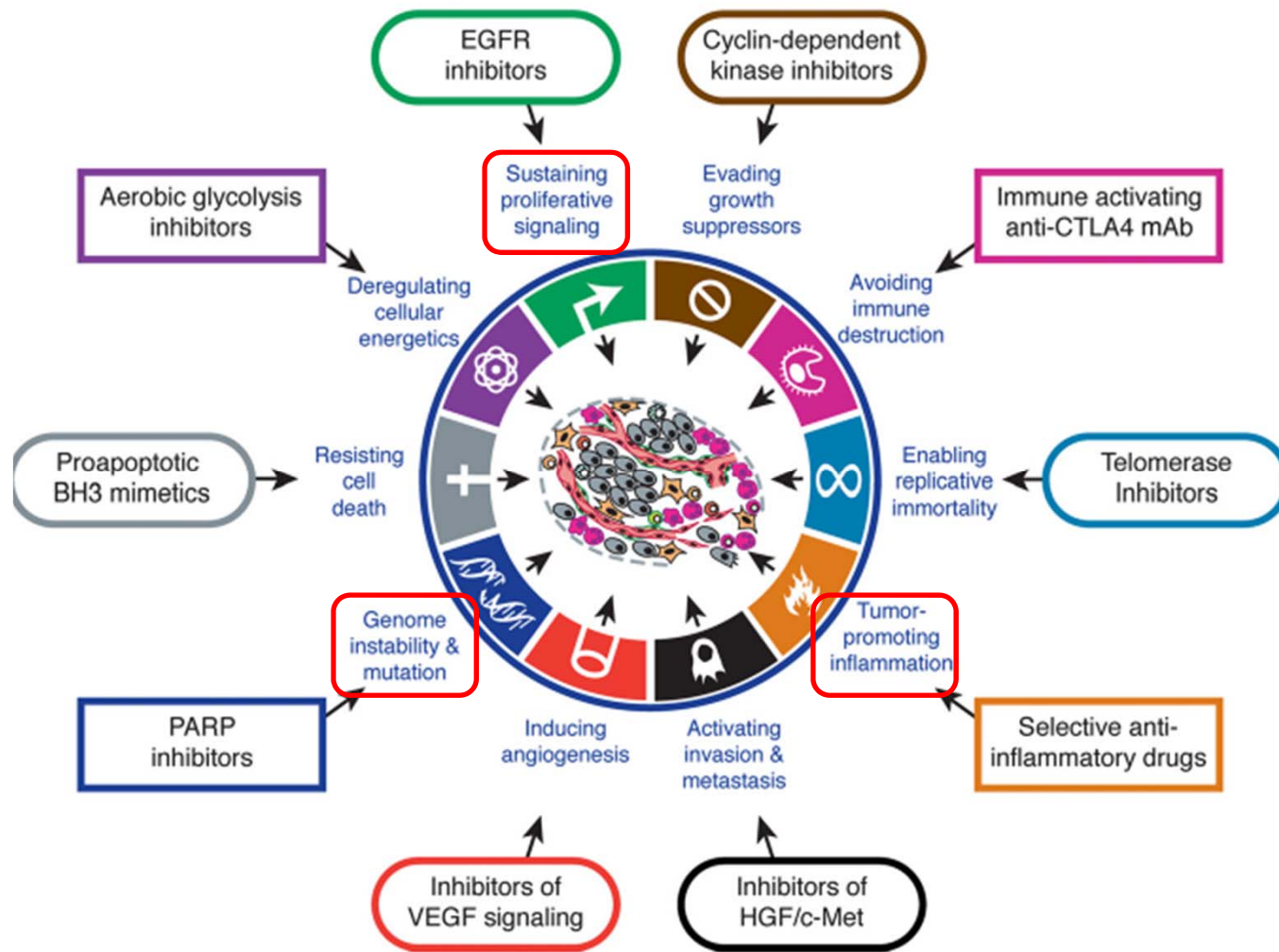
obsahují v promotorové nebo enhancerové oblasti tzv. xenobiotic response elements (XRE) / dioxin responsive elements (DRE):

- enzymy I. fáze biotransformace - *CYP 1A1, CYP 1A2, CYP 1B1*;
- enzymy II. fáze biotransformace - *UDP-glucuronosyltransferase, GST-Ya, NADP(H):oxidoreductase*;
- **regulátory buněčného cyklu, apoptózy, diferenciace, senescence** – *Bax?*, *p27^{Kip1}*, *JunD*, *TGF-β*;
- AhRR.

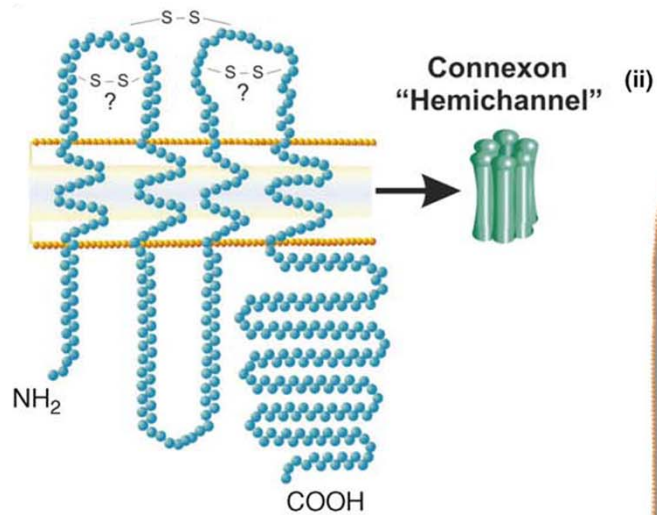
Mechanismy karcinogenity PAU

- aktivace AhR a dalších receptorů – modulace buněčné proliferace, apoptózy a mezibuněčné komunikace – ovlivnění přežívání a expanze iniciovaných buněk;

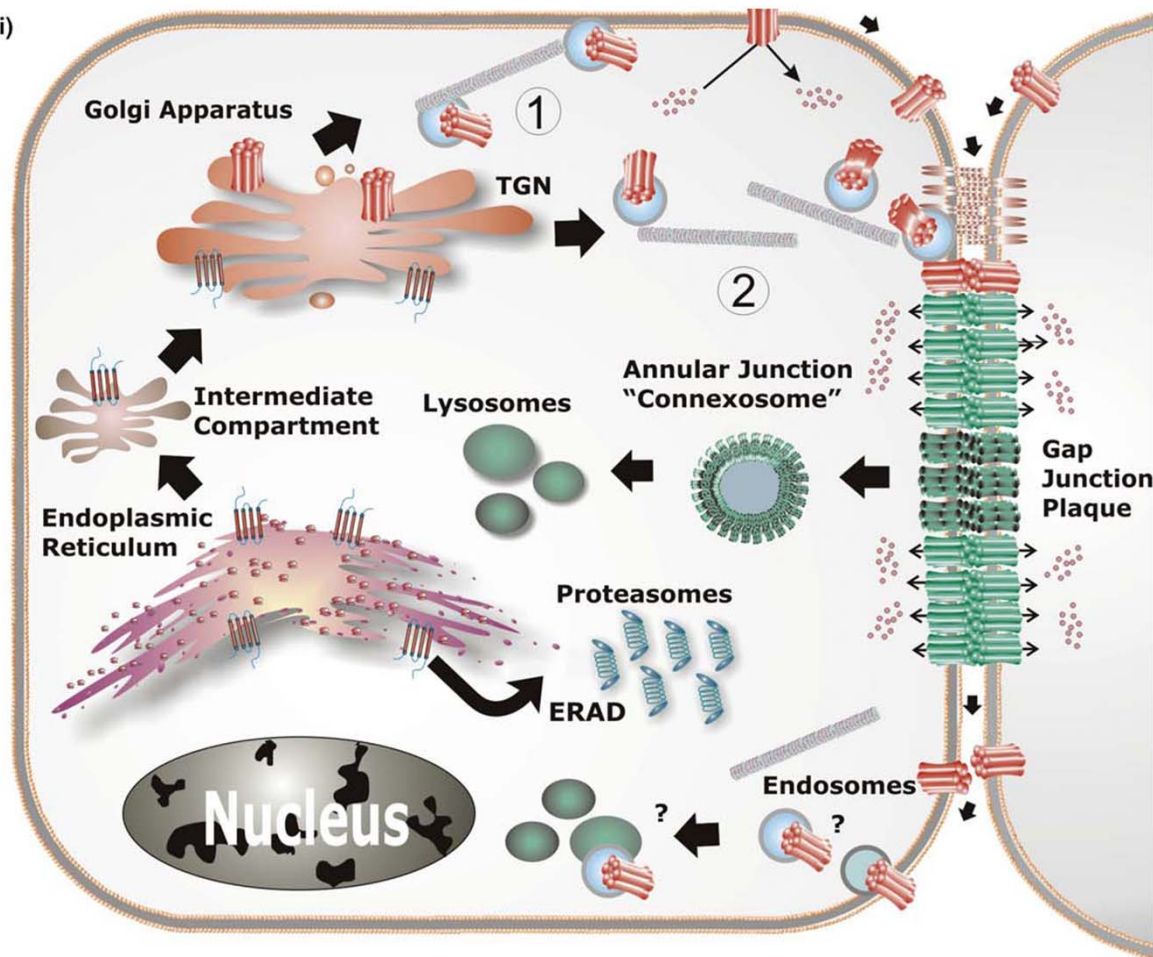
Mechanismy karcinogenity PAU



Inhibice gap junctions PAU

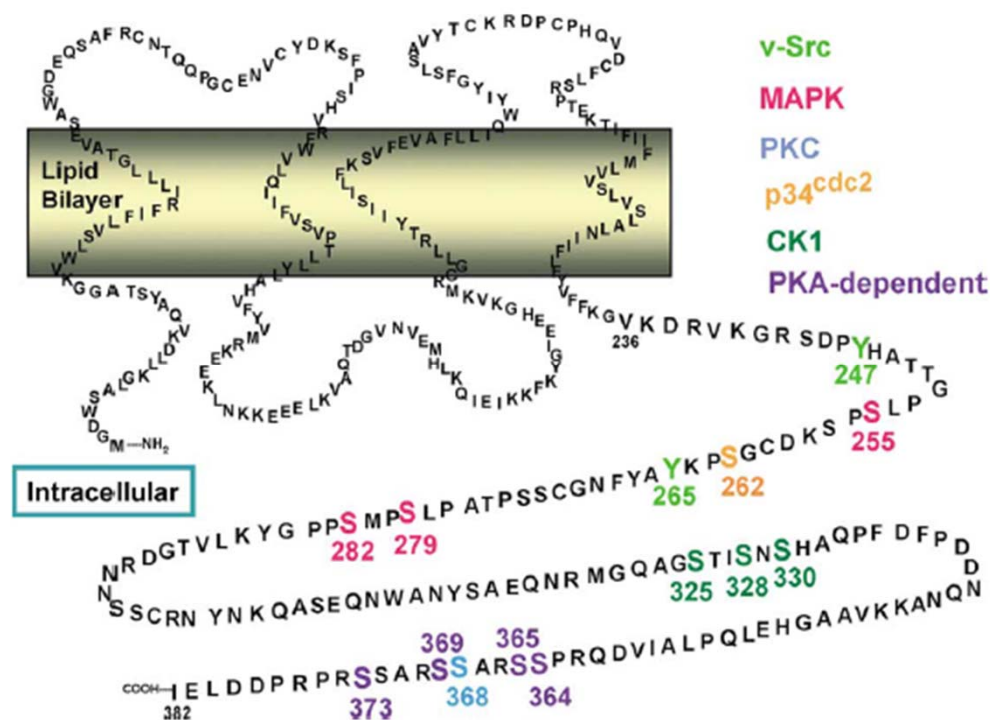


gap junctions (mezerové spoje) – udržování homeostázy, kontrola buněčné proliferace – výměna malých molekul



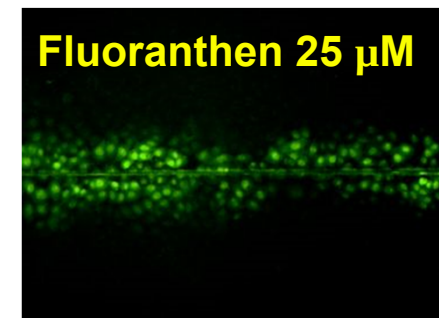
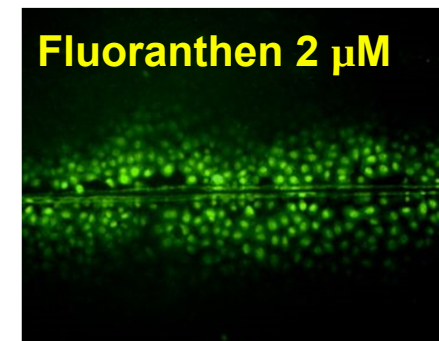
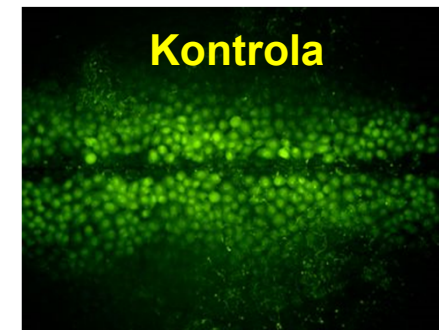
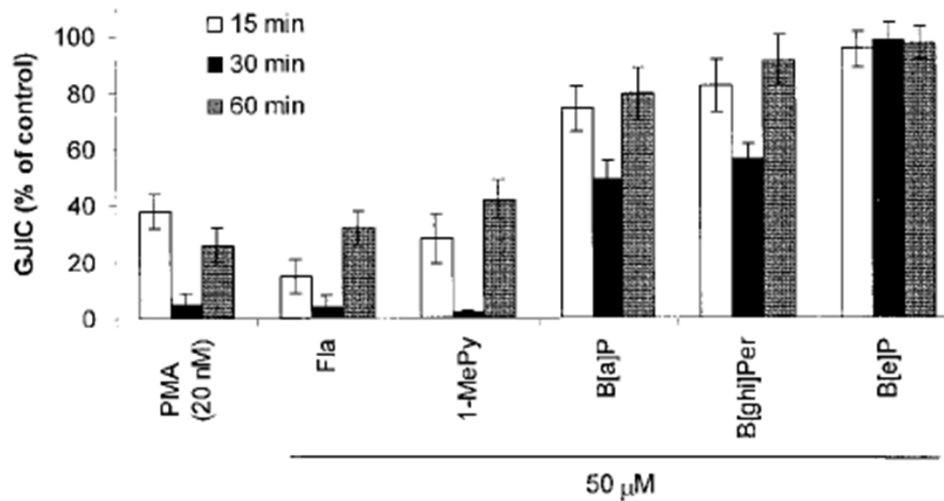
Inhibice gap junctions PAU

- nádorové promotory inhibují GJ prostřednictvím přímých mechanismů – hyperfosforylace a degradace konexinů, ovlivnění exprese, transportu a assembly;



Inhibice gap junctions PAU

- nízkomolekulární PAU – rychlá, tranzientní inhibice GJ komunikace;

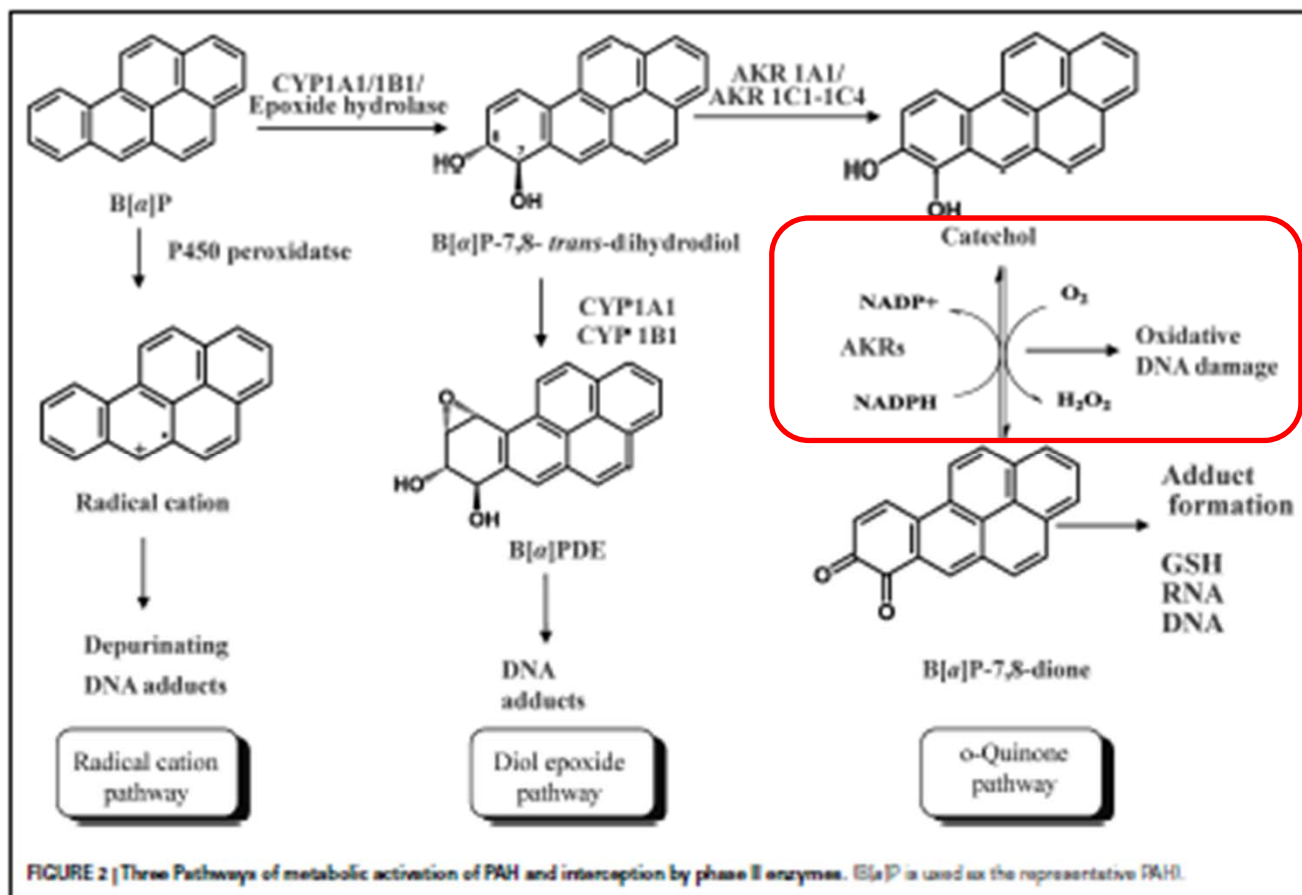


Karcinogenita PAU – kombinace různých účinků

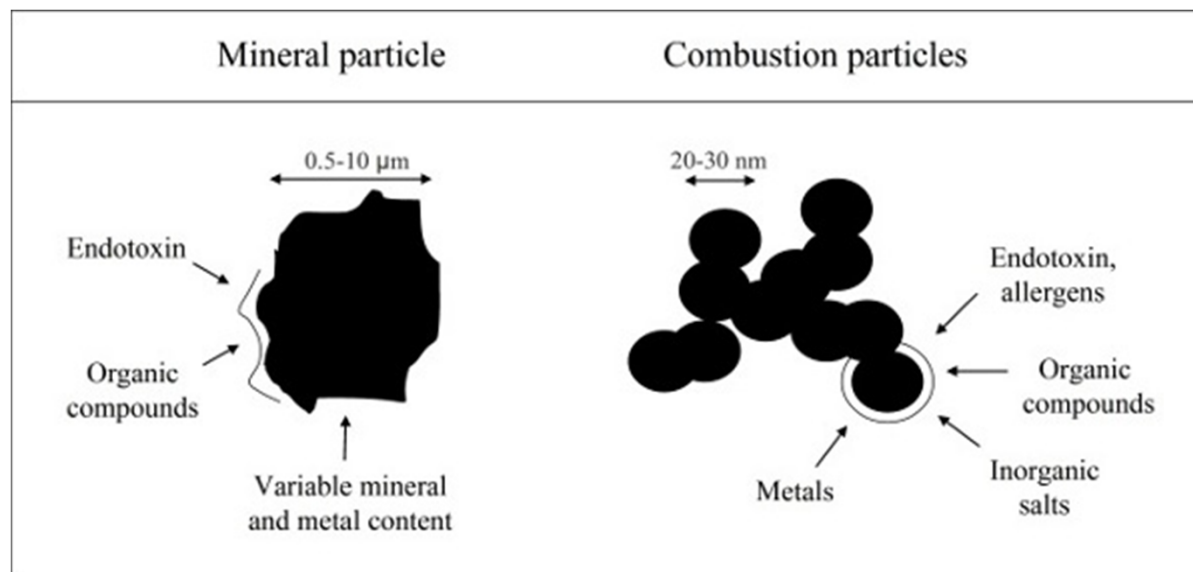
		relative mutagenicity ^[1]	AhR-activity ^[2]	Inhibition of GJIC ^[3]
US EPA priority	Fluorene (166)	n.a.	0	5
PAHs	Anthracene (178)	n.a.	0	0
under study	Phenanthrene (178)	0	0	5
	Fluoranthene (202)	0	0.0003	10
	Pyrene (202)	0	0.20	5
	Benz[a]anthracene (228)	0.082	0.078	0.5
	Chrysene (228)	0.017	1.121	0.5
	Benzo[b]fluoranthene (252)	0.25	0.037	0.5
	Benzo[k]fluoranthene (252)	0.11	18.201	0
	Benzo[a]pyrene (252)	1	1	1
	Dibenzo[a,h]anthracene (278)	0.29	12.986	0
	Indeno[1,2,3-cd]pyrene (276)	0.31	3.285	0
	Benzo[ghi]perylene (276)	0.19	0	0.5

Mechanismy karcinogenity PAU

- tvorba ROS – oxidativní stres – různé mechanismy - metabolismus;



PAU – komplexní účinky směsí a částic



*Schwarze a kol. Importance of
Components and Sources for Health
Effects of Particulate Air Pollution*

- PAU interagují s dalšími složkami částic;

Toxické účinky částic polétavého prachu

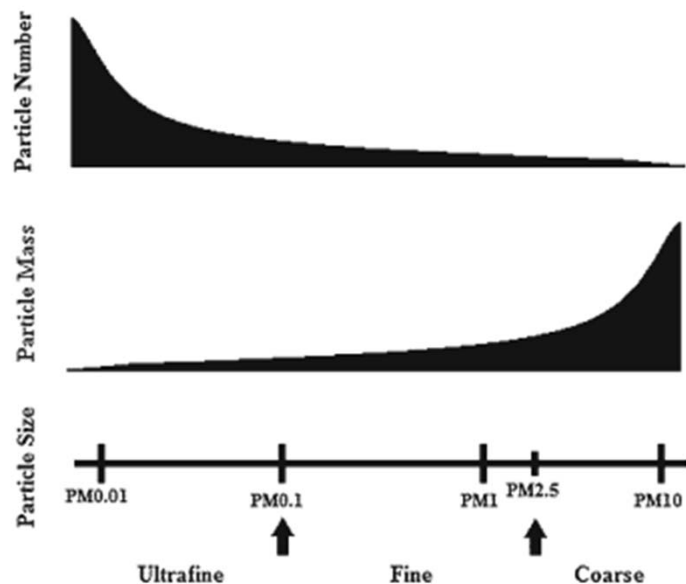
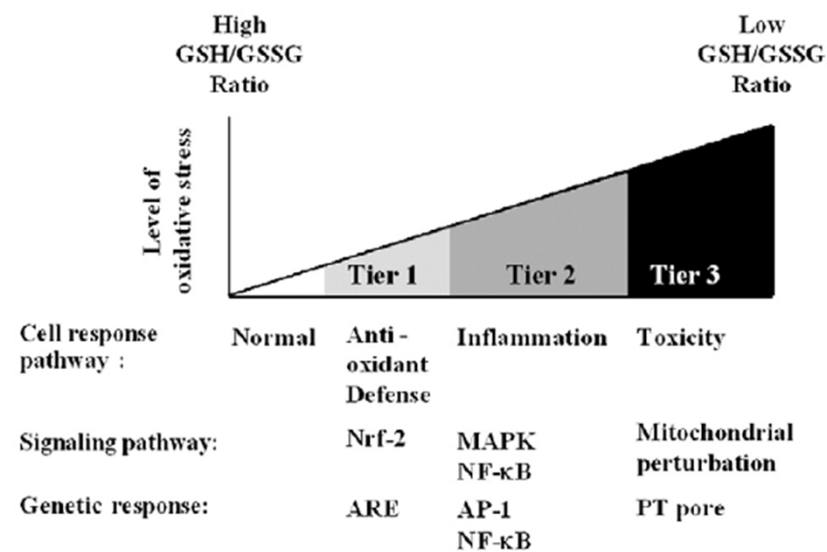
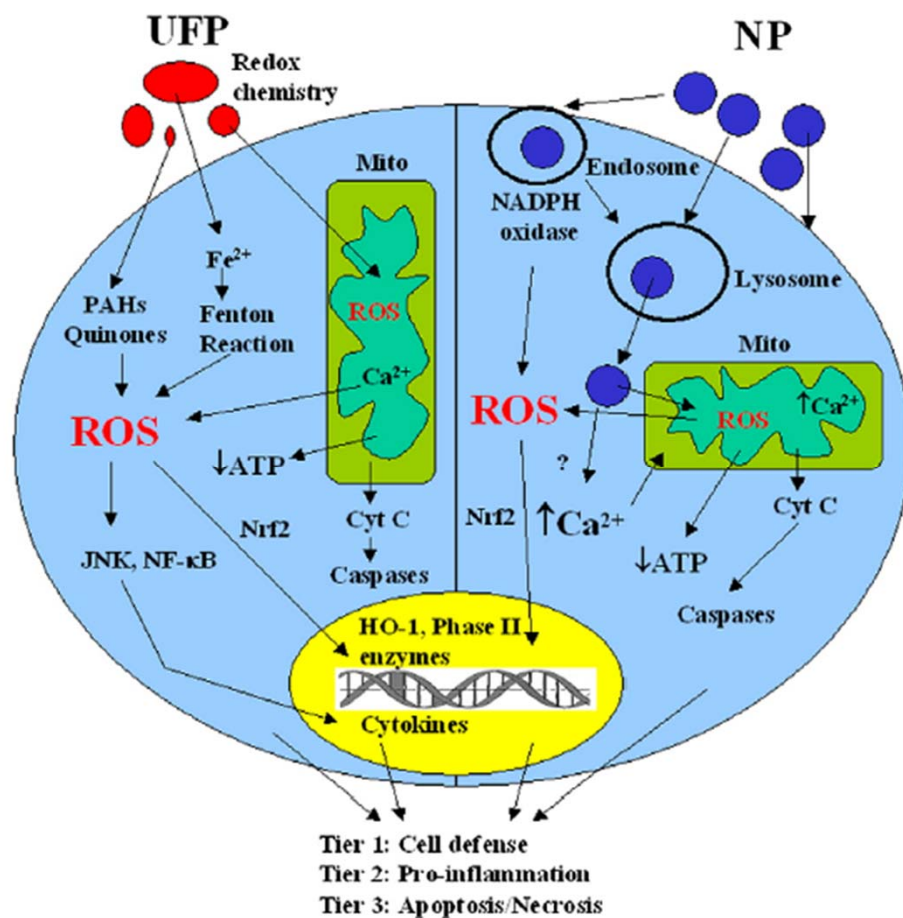


Table 1
Comparison of coarse, fine, and ultrafine particles

Parameter	Coarse	Fine	Ultrafine
Size	2.5–10 μm	0.10–2.5 μm	<0.10 μm
Organic carbon content	+	++	+++
Metal content	+++	++	+
PAH content	+	+	+++
Source of ROS	Transition metals	PAH Quinones	PAH Quinones

Oxidativní stres



Oxidativní stres – součást komplexního poškození DNA

