

Přednáška č. 9
Transport, toxikokinetika a degradace
polutantů

Polutanty v životním prostředí a jejich transport

- jedním ze základních rysů, který odlišuje environmentální toxikologii a klasické toxikologické obory je to, že **při posuzování kontaminace prostředí a toxicity polutantů je nutné zvažovat jejich stabilitu a transport v životním prostředí;**
- po uvolnění chemikálie do prostředí dochází velmi často ke **změnám struktury, i interakcím s dalšími složkami ovzduší, vody nebo půdy, což může zásadně ovlivnit toxické účinky dané chemikálie;**

Polutanty v životním prostředí a jejich transport

Základní otázky:

- jaké **parentální sloučeniny** a **produkty jejich degradace** jsou přítomné ve významném množství v ŽP?
- jak jsou **distribuvány** – rozpuštěné ve vodném prostředí, navázané na pevné částice či v plynné fázi?
- jaká je **perzistence** parentální sloučeniny a jejích produktů?
- jaká je **biodostupnost**?
- dochází k **biokoncentraci**, **bioobohacování** či **bioakumulaci**?

Bioakumulace

- zvyšování koncentrace látky v organismu vzhledem k její koncentraci v životním prostředí;
- chemické látky jsou akumulovány organismy přímo z prostředí nebo z kontaminované potravy;
- *Bioakumulace = Příjem z prostředí + Příjem potravou – Vylučování;*
- závisí na celé řadě faktorů – druh a způsob života organismu, druh potravy, hydrofobicita látek, doba kontaktu organismu např. se sedimentem, vlastnosti matrice, ze které daná látka přechází do organismu;

Biokoncentrace

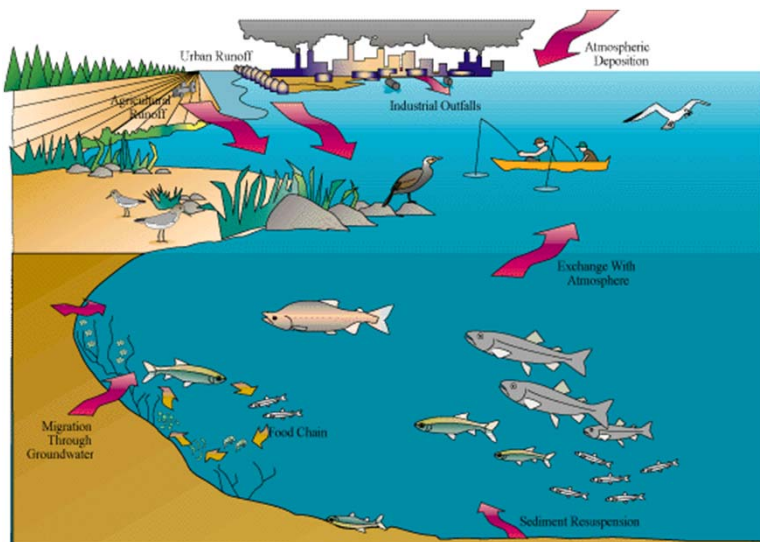
- zvyšování koncentrace látky v organismu vzhledem k její koncentraci v životním prostředí;
- chemické látky jsou akumulovány organismy pouze přímo z prostředí, bez vlivu potravy;
- schopnost biokoncentrace je výrazně závislá na rozpustnosti dané látky ve vodě – rozdělovací koeficient K_{ow} ;

$$K_{ow} = \frac{C_{\text{octanol}}}{C_{\text{water}}}$$

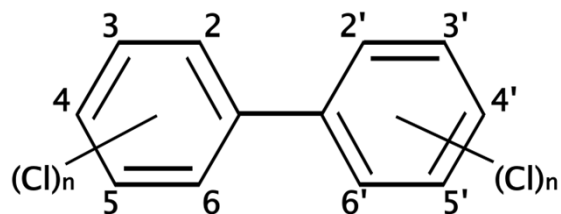
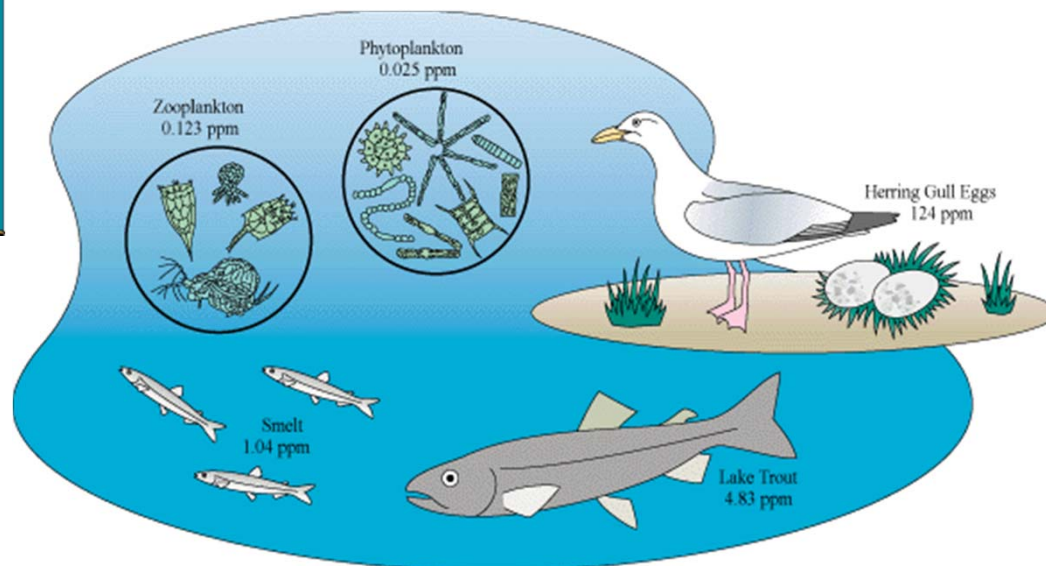
Biomagnifikace (bioobohacování)

- přímý důsledek biokoncentrace a bioakumulace;
- vede k nárůstu koncentrace polutantů (případně produktů jejich degradace) s průchodem dvěma a více úrovněmi trofického řetězce;
- v závislosti na výši trofické úrovně narůstá koncentrace škodlivých látek v organismech, a to především ve vrcholových konzumentech;

Biomagnifikace (bioobohacování)



akumulace PCB v oblasti velkých jezer



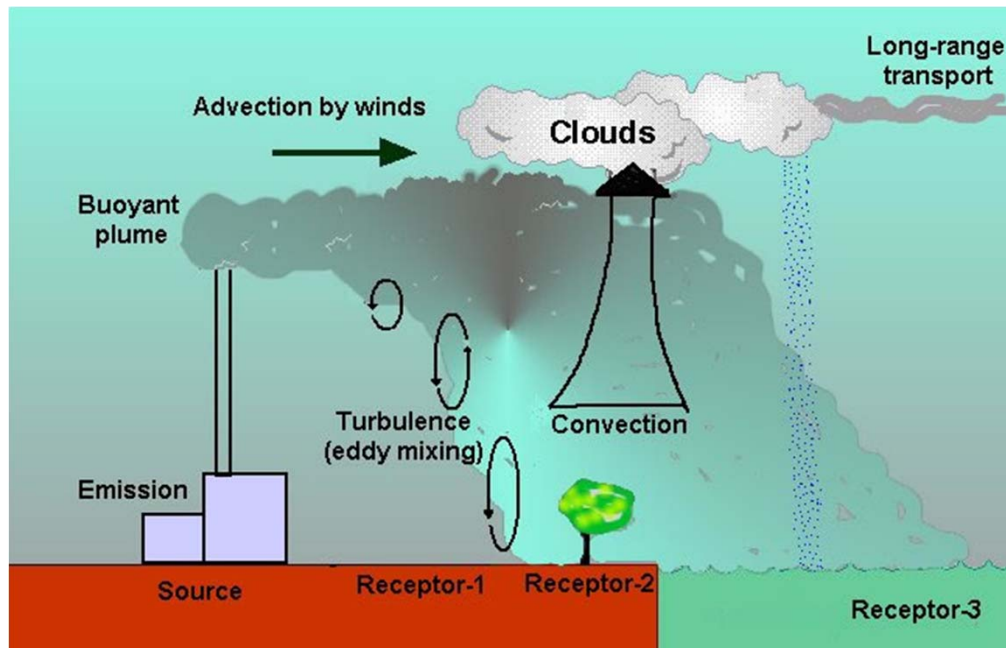
Zdroj: <http://www.epa.gov/glnpo/atlas/images>

Detoxikace

- proces odstraňování toxikantů z organismu;
- biotransformace na látky lépe rozpustné ve vodě, konjugace a vyloučení z organismu;
- vyvázání toxických látek na proteiny, které je inaktivují – metalothioneiny, fytochelatiny, ale !!transportní proteiny!!;
- nebezpečí bioaktivace – např. metabolická aktivace polycyklických aromatických uhlovodíků;
- vs. **detoxikace v prostředí – degradace kontaminantu;**

Transport polutantů

- od místa vzniku nebo uvolnění do ŽP prostředí mohou být polutanty/toxikanty transportovány prostřednictvím povrchových vod, podzemními vodami nebo ovzduším;
- transport zahrnuje proudění (látka se pohybuje stejnou rychlostí jako médium), difuzi a disperzi;



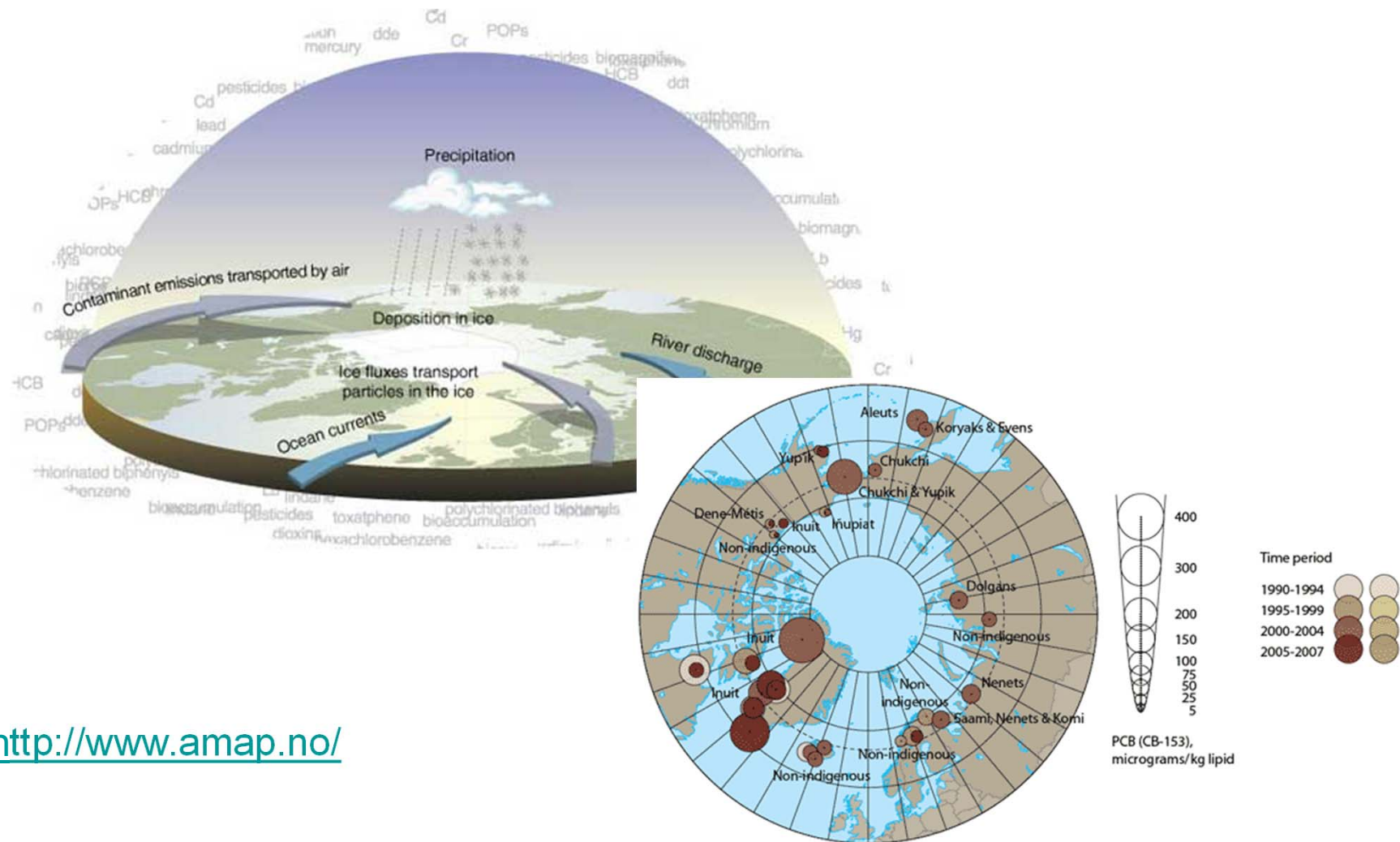
Transport polutantů na dlouhé vzdálenosti

- **long-range atmospheric transport (LRAT);**
- toxikanty mohou být transportovány v atmosféře v plynné formě, rozpuštěné ve vodě, nebo adsorbované na aerosoly a pevné částice;
- částice asociované s vodou nebo pevnými částicemi mohou být potom tzv. mokrou depozicí (wet deposition) – sních, déšť, mlha nebo suchou depozicí (dry deposition) - především v blízkosti emisních zdrojů – prach, popílek apod. přeneseny zpět na zemský povrch – kontaminace vody (sedimenty, rozpustné látky) nebo půdy;

Semivolatilní organické sloučeniny (SVOC)

- PCB, polycyklické aromatické uhlovodíky, ftaláty, organochlorované pesticidy;
- v závislosti na teplotě se uvolňují do atmosféry – především v tropickém a mírném pásmu;
- v polárních oblastech k jejich kondenzaci a depozici – akumulace SVOC ve vysokých zeměpisných šířkách – tzv. **globální destilace**, (nebo ve vyšších nadmořských výškách);
- **globální frakcionace** – v závislosti na fyz.-chem. vlastnostech – bod varu – migrují různé SVOC různě daleko;

Semivolatilní organické sloučeniny (SVOC) v Arktidě



<http://www.amap.no/>

Biotransport

- živé organismy mohou toxikanty nejen degradovat prostřednictvím biotransformačních procesů, ale také transportovat;
- týká se to zejména méně volatilních sloučenin, které nejsou transportovány globálním atmosférickým transportem;
- speciální případ – biovektorový transport (živé organismy přenášejí a deponují toxické chemikálie na cílovém místě)
– příklad migrace pacifických lososů;

Perzistence

- definována jako doba po kterou daná chemikálie setrvává v daném environmentálním kompartmentu;
- vyšší perzistence zvyšuje pravděpodobnost prodloužené expozice a zvýšené toxicity;
- perzistentní chemikálie se sice mohou prostřednictvím transportu přesouvat, ale setrvávají v ŽP;
- hlavní mechanismy odstraňování toxikantů – **abiotická a biotická degradace**;

Kritéria pro perzistentní, bioakumulující a toxické chemikálie

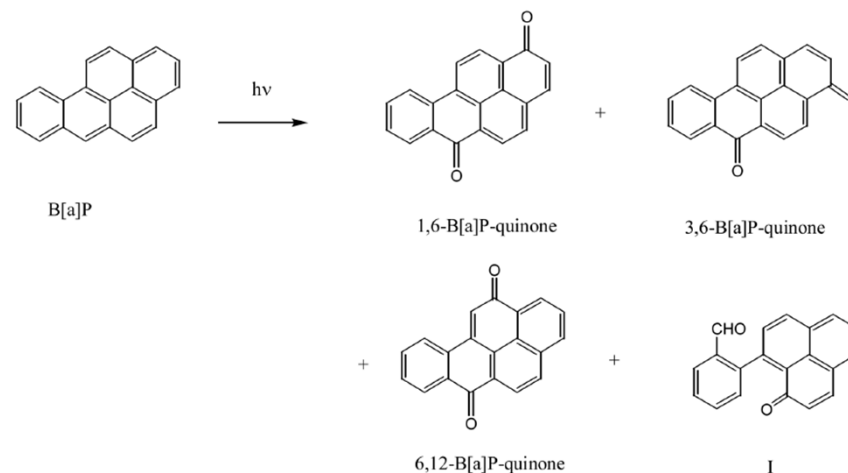
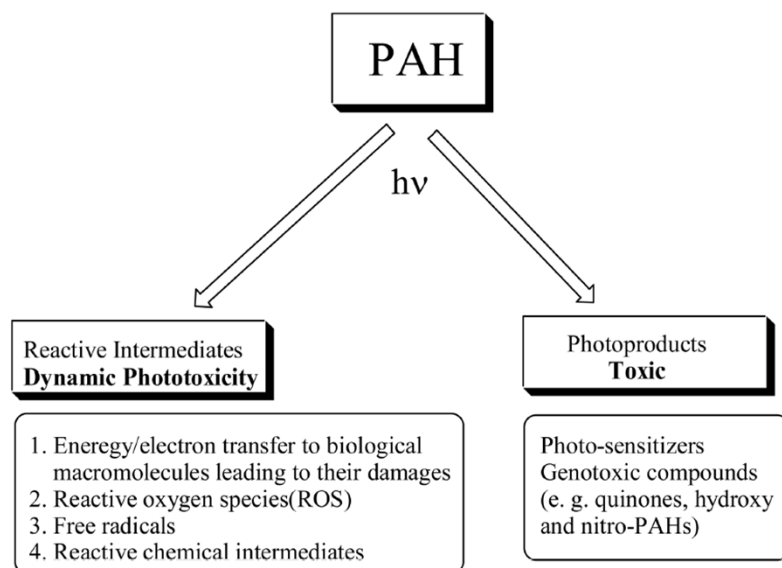
SÚ:

- poločas rozkladu – ve vodě > 60 dnů, v půdě > 180 dnů, v ovzduší > 2 dny;
- bioakumulace – BCF > 5000;
- data toxikologických nebo ekotoxikologických studií naznačují možnost poškození lidského zdraví nebo ŽP;

Biotická vs. abiotická degradace

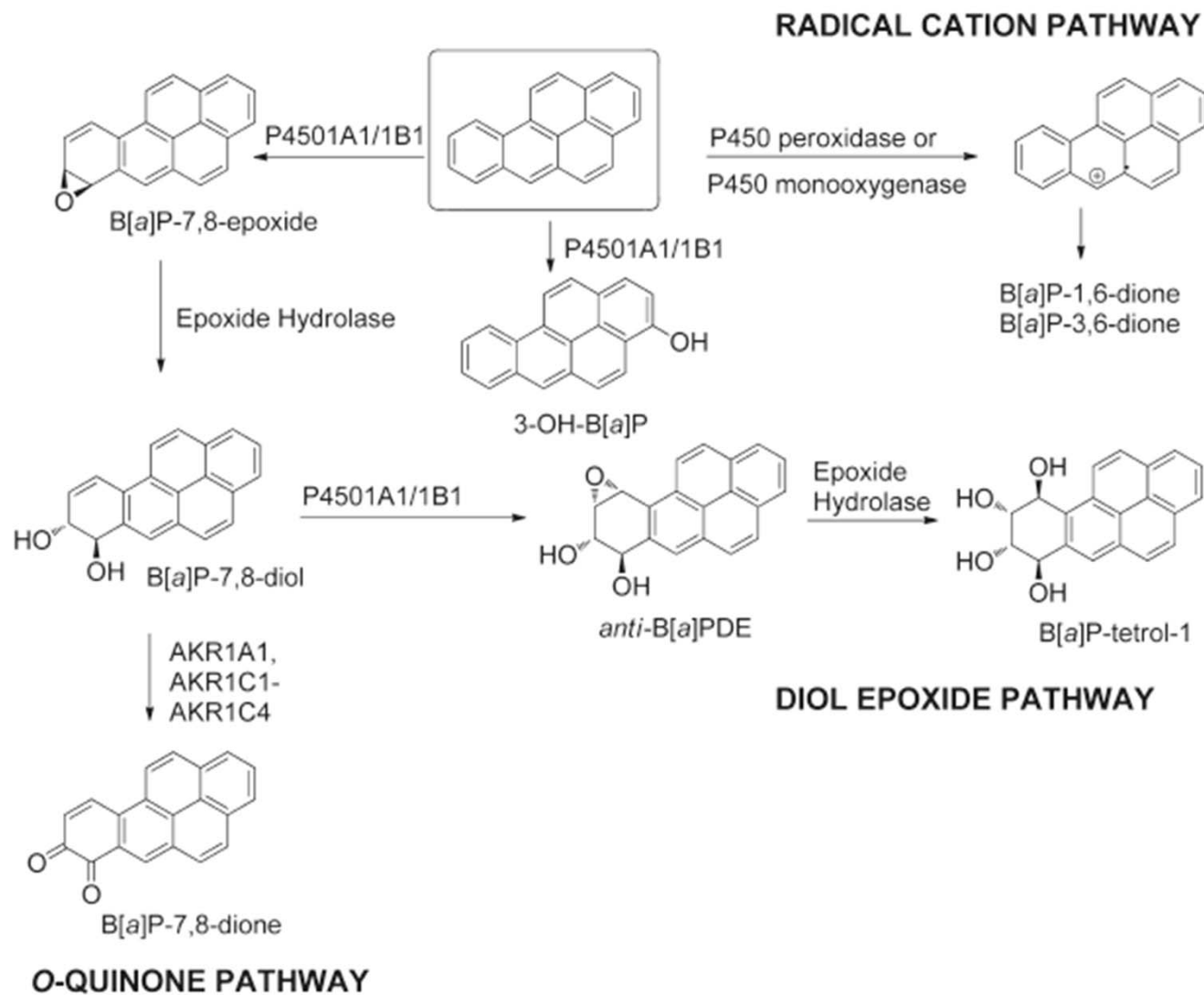
- obě významně snižují perzistenci toxikantů;
- rychlost biotické degradace je vyšší;
- enzymatické reakce (mikroorganismy) vs. fotolýza, chemické reakce;
- **biotická degradace** zahrnuje reakce – oxidace, redukce, hydrolýza, dealkylace, dehalogenace, štěpení aromatických kruhů;
- **abiotická degradace** zahrnuje – oxidace, redukce, *fotolýza*, hydrolýza, dealkylace, dehalogenace, štěpení aromatických kruhů;
- **obě mohou vést ke vzniku více toxických produktů** – př. fototoxické (UV) produkty polycyklických aromatických uhlovodíků vs. genotoxické produkty jejich metabolismu;

Biotická vs. abiotická degradace



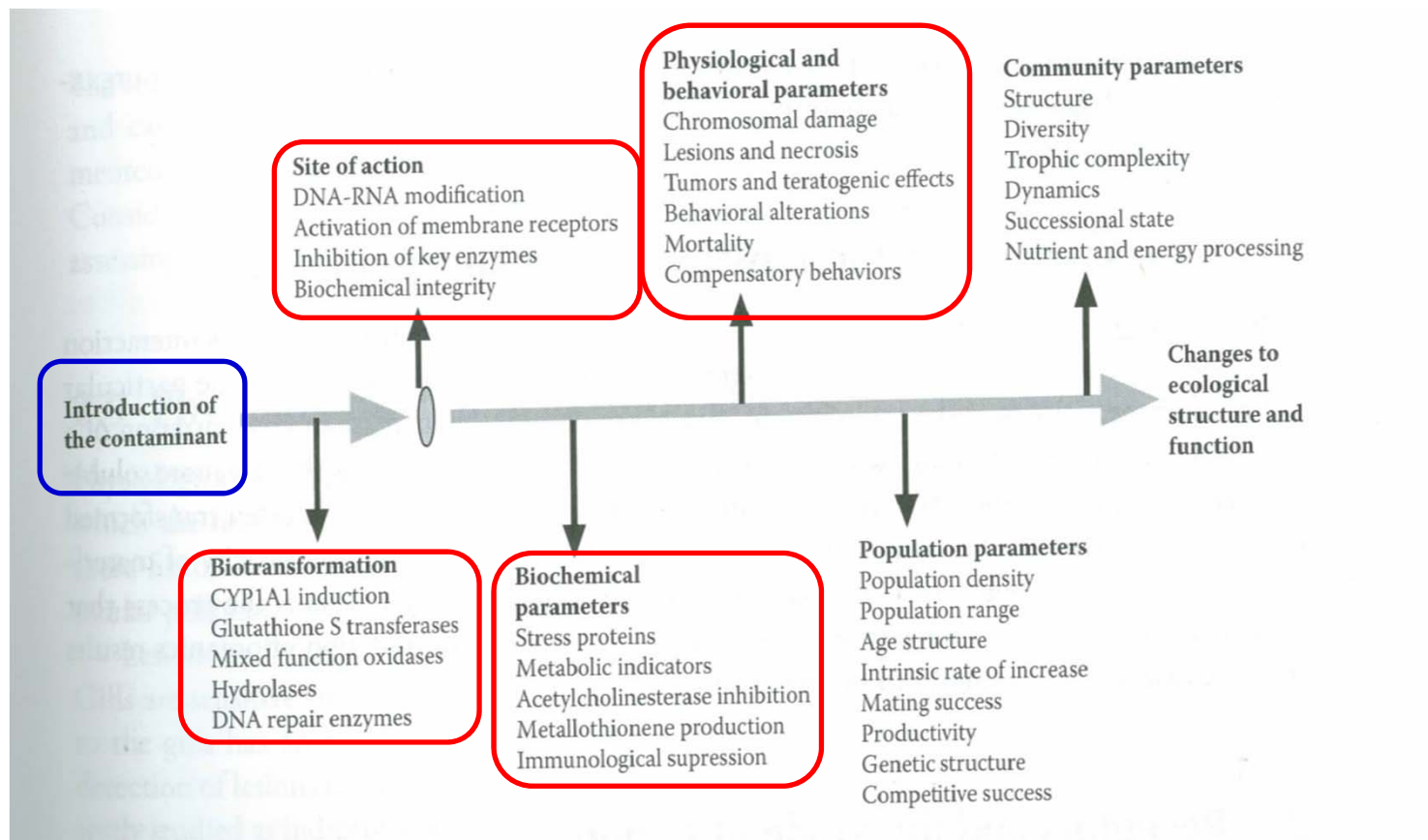
Yu, *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2002; 20(2): doi:10.1081/GNC-120016203

Biotická vs. abiotická degradace



Mikrobiální degradace

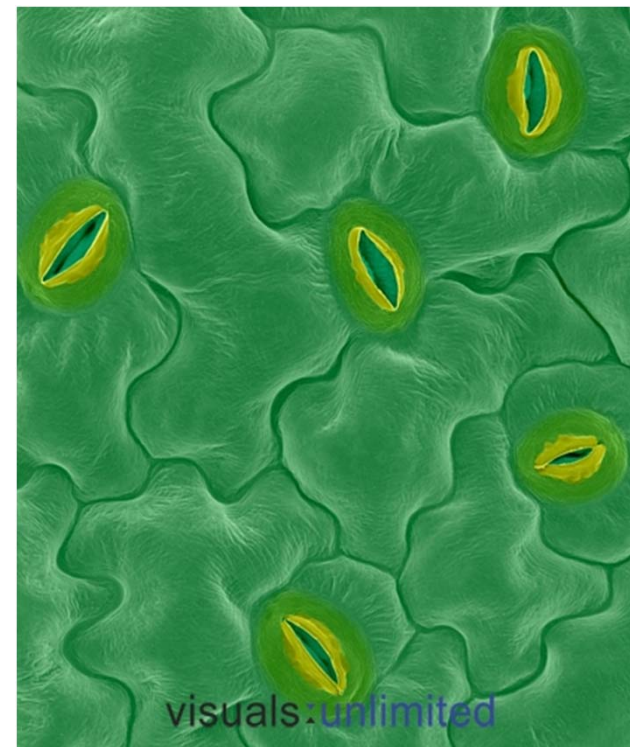
- **aerobní vs. anaerobní biodegradace;**
- velká pozornost – možnost **bioremediace** bez náročných technologických operací;
- alifatické a aromatické uhlovodíky, polyhalogenované sloučeniny, heterocyklické sloučeniny apod.;
- organické polutanty mohou být degradovány jako součást energetického metabolismu nebo jako kometabolity;
- více typů bakterií obvykle kooperuje – jediný mikroorganismus není odpovědný za degradaci určité chemické látky – komplikovaný proces;
- důležitým krokem u halogenovaných sloučenin je především odstranění Cl a Br skupin;



Proniknutí toxické látky do organismu

Rostliny:

- primární místo proniknutí atmosférických polutantů - průduchy;
- závisí na řadě faktorů, zahrnujících orientaci a morfologii listů, otevřenost průduchů – obsah CO_2 v listu, světlo, vlhkost, teplota, hladina draslíku apod.;
- rozsah poškození také závisí na přechodu polutantu z plynné do kapalné fáze;
- z půdy – kořeny, příjem rozpuštěných toxikantů;



Proniknutí toxické látky do organismu

Živočichové:

- tři primární cesty – pokožkou (vlasové váčky, potní a mazové žlázy), dýchacím traktem nebo GIT;
- vyloučení z organismu – moč, stolice a vydechovaný vzduch;
- transport krví, orgánově-specifická akumulace;
- hlavní místa akumulace – játra, plíce, ledviny, kosti a tuková tkáň;
- metabolismus a exkrece;

Metabolismus a detoxikace polutantů

3 fáze metabolismu cizorodých látek:

- **1. fáze biotransformace** – konverze – oxidace, redukce, hydrolýza, hydratace a izomerace;
- **2. fáze biotransformace** – konjugační reakce – glukuronidace, sulfonace, metylace, acetylace, konjugace s glutathionem, konjugace s aminokyselinami;
- **3. fáze biotransformace** – vyloučení konjugovaných metabolitů z buňky – ABC transportéry a další transportní proteiny;

Přehled: L. Skálová a kol., Metabolismus léčiv a jiných xenobiotik, Karolinum, Praha, 2011

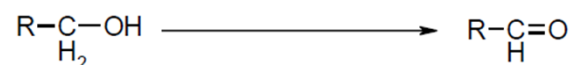
1. fáze biotransformace

Oxidace:

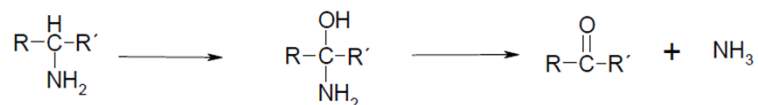


- **hydroxylace** – běžná biotransformační reakce (alifatické, aromatické uhlovodíky) – snižuje se lipofilita toxikantu, vzniklé hydroxyderiváty podléhají dalším konverzním nebo konjugačním reakcím;

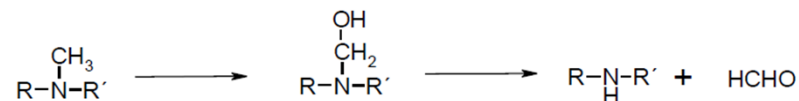
- oxidace alkoholů a aldehydů;



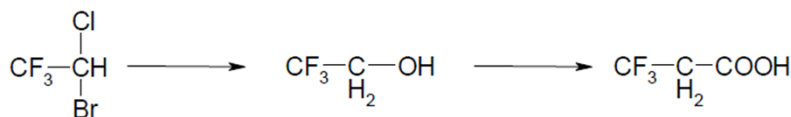
- oxidační deaminace;



- **dealkylace** - sekundární a terciární aminy, alkoxy-, alkylthiolové skupiny;



- **dehalogenace**;



- *N*-oxidace, *S*-oxidace;



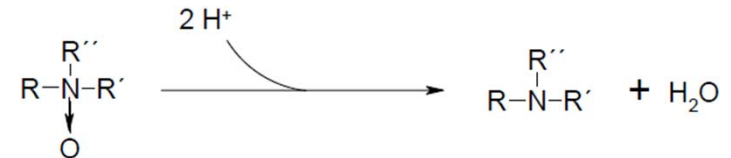
1. fáze biotransformace

Redukce:

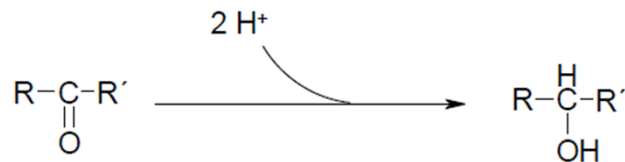
- z hlediska množství metabolizovaných látek méně významné, ale představují hlavní cestu pro detoxikaci některých specifických skupin látek;
- např. redukce nitrosloučenin a azosloučenin;



- **redukce N-oxidů a S-oxidů;**



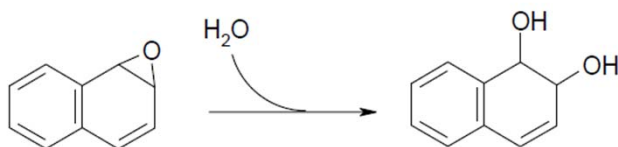
- **redukce karbonylových sloučenin a chinonů;**



1. fáze biotransformace

Hydrolýza:

- estery, epoxidy, amidy, hydrazidy a karbamáty;
- některé hydrolasy (např. epoxidhydrolasa) jsou schopné katalyzovat i hydrataci (tj. adici vody);
- hydrolýze mohou podléhat i některé konjugáty xenobiotik;



Enzymy 1. fáze biotransformace

- **cytochromy P450;**
- flavinové monooxygenasy;
- peroxidasy;
- alkoholdehydrogenasy;
- aldehyd dehydrogenasy;

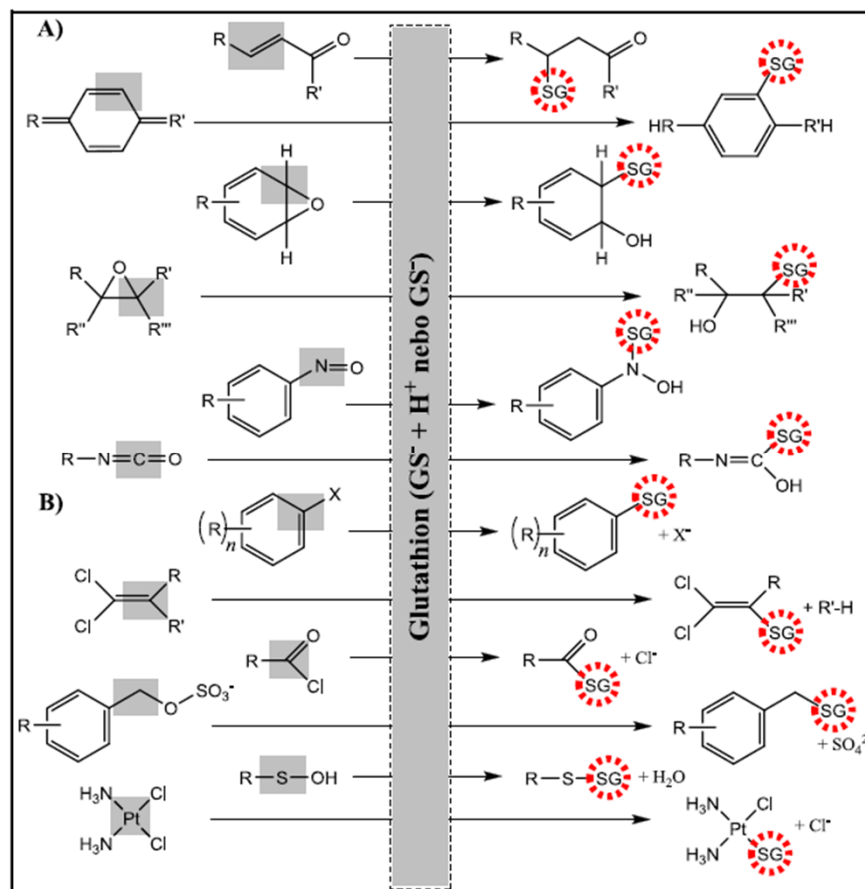
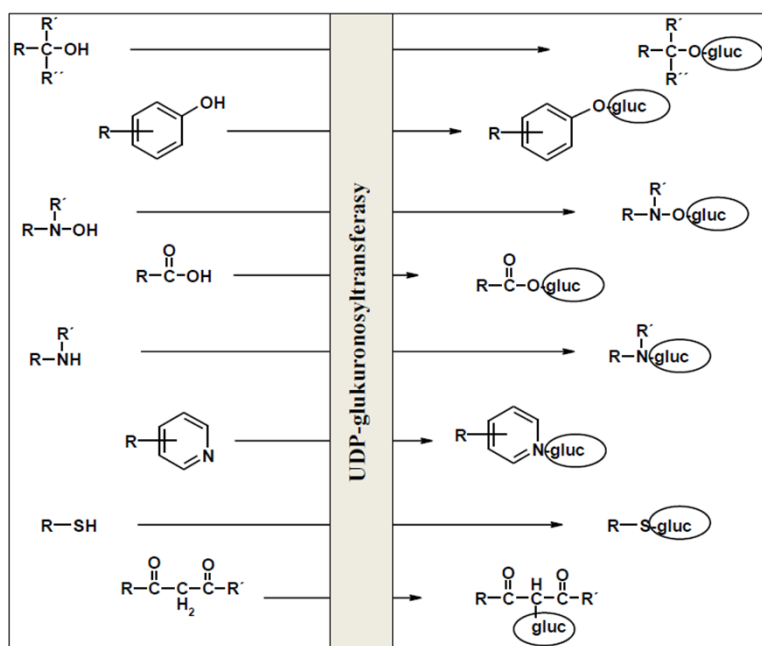
- aldo-keto reduktasy;
- dehydrogenasy s krátkým řetězcem (např. karbonylreduktasy);

- hydrolasy – zvl. roli epoxidhydrolasa;

2. fáze biotransformace

Konjugační reakce:

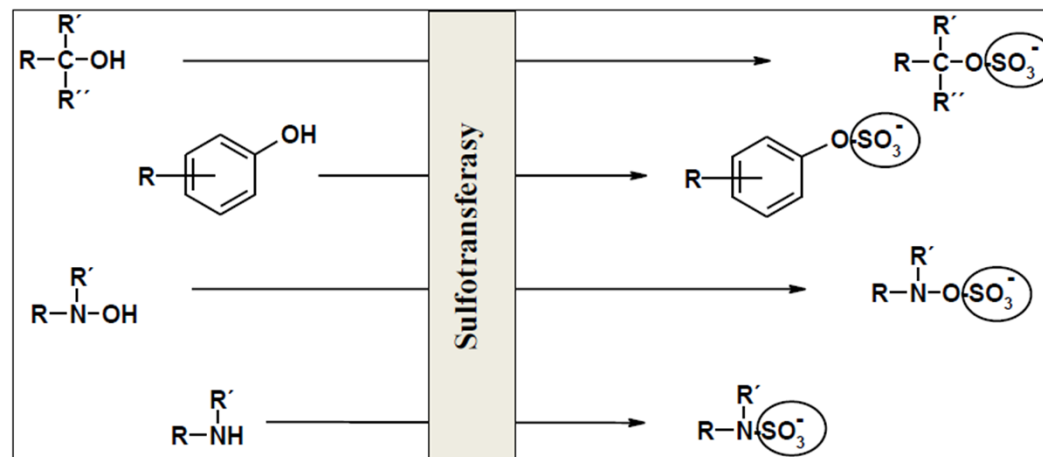
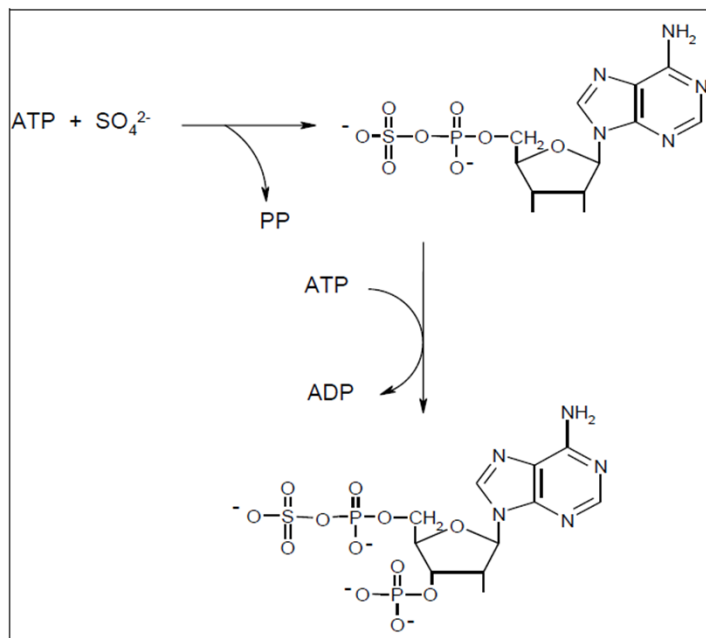
- nejvýznamnější pro – konjugace s **UDP-glukuronovou** skupinou, **glutathionem** a sulfonace (s 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfátem);



2. fáze biotransformace

Konjugační reakce:

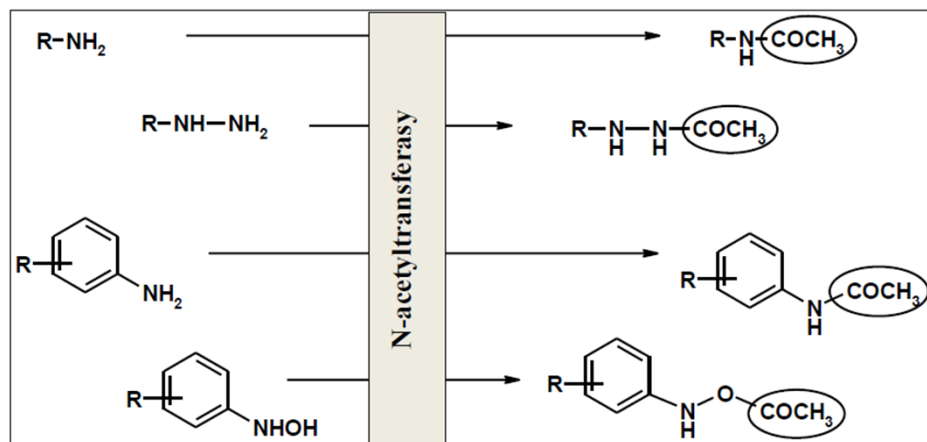
- nejvýznamnější pro – konjugace s UDP-glukuronovou skupinou, glutathionem a **sulfonace** (s 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfátem);



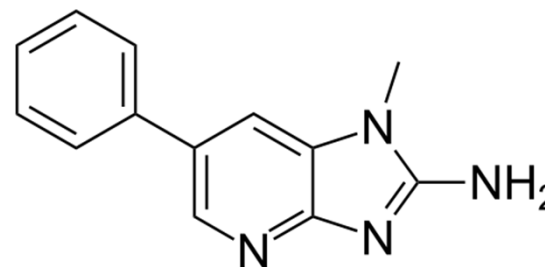
2. fáze biotransformace

Konjugační reakce:

- acetylace – cytosolové N-acetyltransferasy;
- bioaktivace heterocyklických aminů – silné genotoxiny;



L. Skálová a kol., Metabolismus léčiv a jiných xenobiotik, Karolinum, Praha, 2011



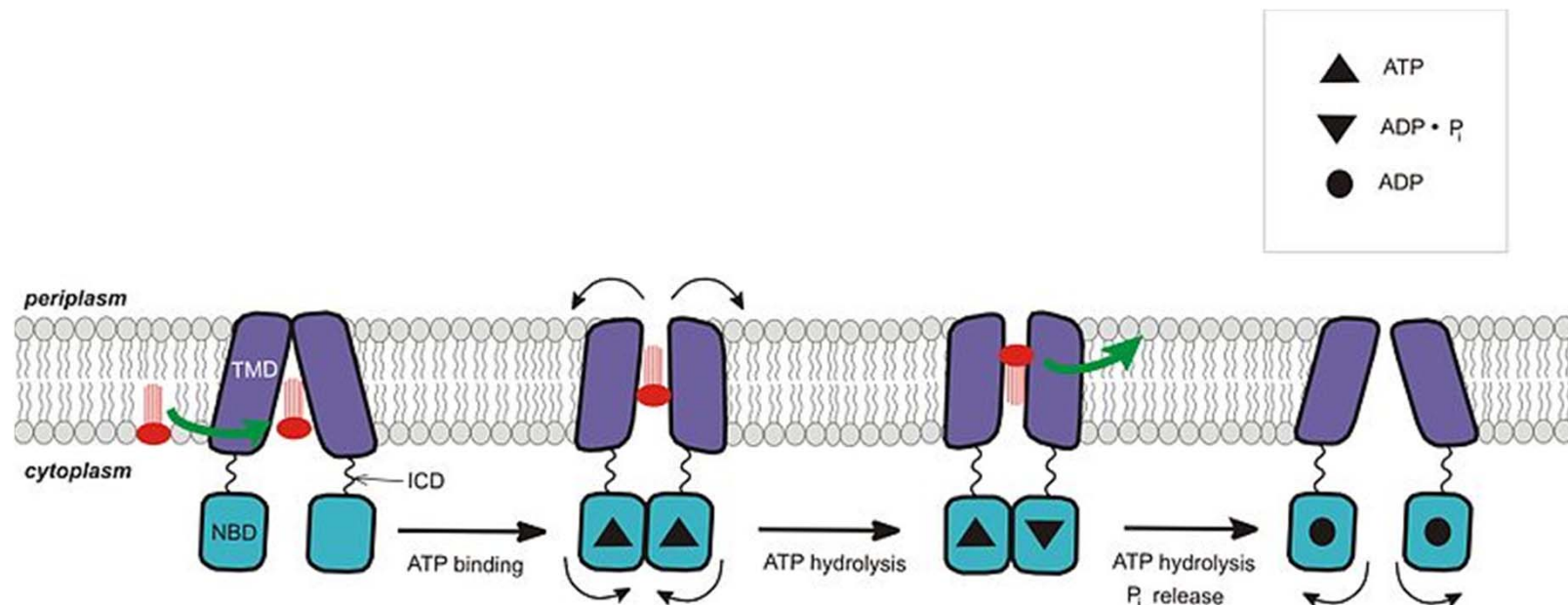
2-amino-1-methyl-6-fenylimidazo[4,5-b]pyridin (PhIP)

Enzymy 2. fáze biotransformace

- **UDP-glukuronosyltransferasy;**
- **gluthathion-S-transferasy** – cytosolové, mikrosomální;
- **sulfotransferasy;**
- *N*-acetyltransferasy;
- methyltransferasy;

Transport polutantů a jejich metabolitů

- někdy označován jako 3. fáze biotransformace;
- hlavní roli hrají specifické transportní proteiny – přenašeče;
- ABC transportéry (z angl. *ATP-binding cassette*) – BRCP, MDR1/P-gp, MRP proteiny;
- SLC proteiny - přenašeče hydrofilních látek (angl. *solute*

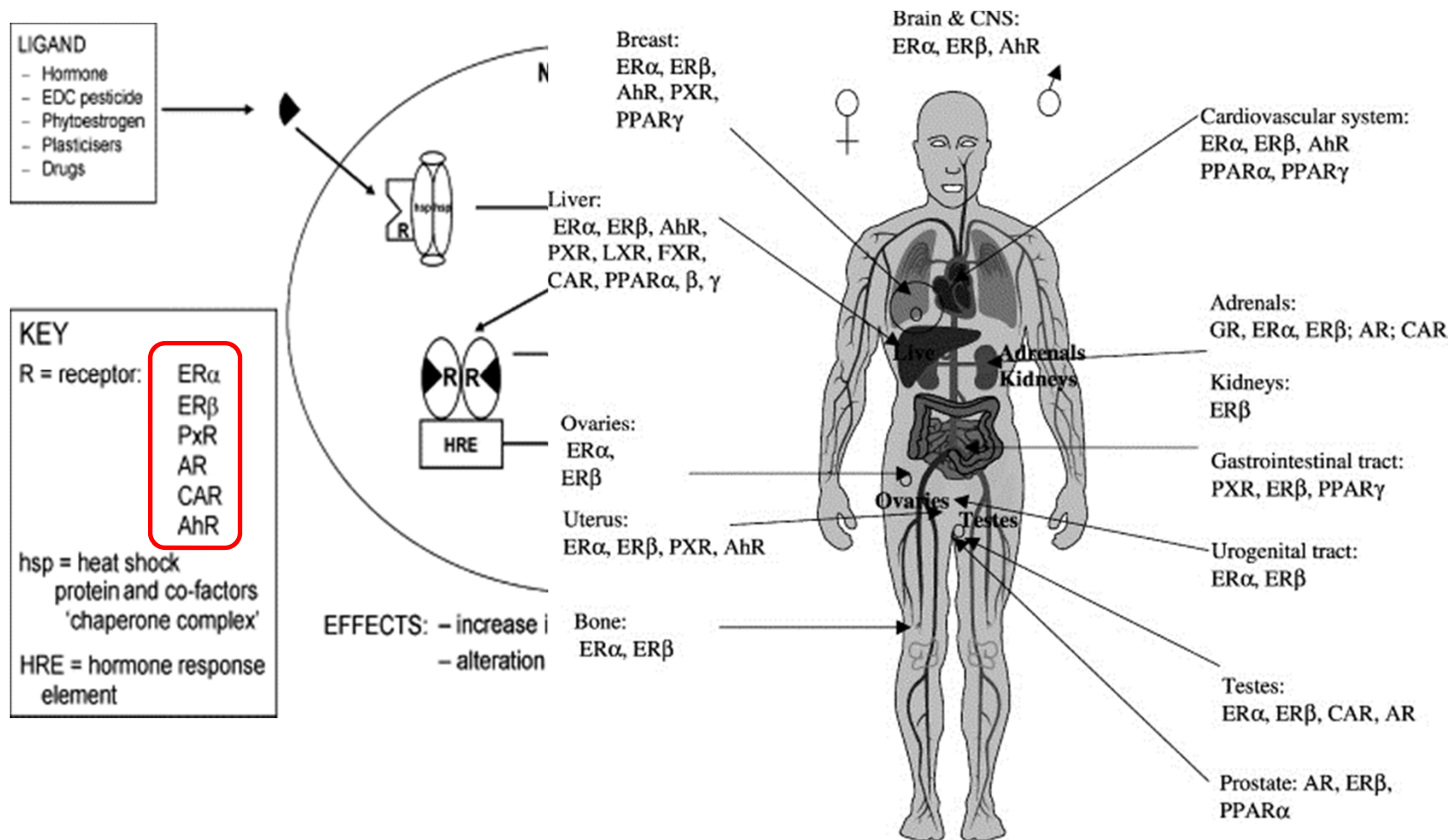


Dong et al., 2005, Science 308: 1023-1028.

Modulace exprese/aktivity biotransformačních enzymů toxikanty

- řada polutantů, podobně jako látky přírodního původu, může modulovat svůj vlastní metabolismus prostřednictvím aktivace specifických buněčných receptorů;
- rodina jaderných receptorů;
- aktivace Ah receptoru;
- struktura polutantu určuje jeho aktivitu vůči receptoru – i příbuzné polutanty mohou aktivovat různé receptory v závislosti na specifické struktuře;

Modulate exprese/aktivitu biotransformačních enzymů toxikanty



Modulace exprese/aktivity biotransformačních enzymů toxikanty

Table 3 | XME receptors that regulate XMEs and/or XRTs

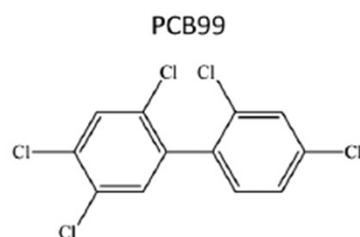
XME receptor	Ligands	XMEs up- or downregulated	XRTs up- or downregulated
AHR	Dioxin, coplanar PAHs, coplanar PHAHs, benzoflavones	CYP1, CYP2A, CYP2C*, CYP2S1*, NQO1, ALDH3A1, GSTA1, UGT1A6/7	?
CAR	Phenobarbital, TCPOBOP, colupulone, androstanes	CYP2B, ALDH, esterase, FMO, methyltransferase, GST, SULT, UGT1A6	ABCC2
FXR	Bile acids	CYP7A1, CYP8B1	ABCB11
HNF-1 α	Bile acids	UGT1A7, GSTA2, UGT1A1, UGT2B17	SLC21A6
HNF3 α,β,γ	Epidermal growth factor, fushi tarazu factor-1 α , LPS	CYP2C, CYP3A, CYP7A1	SLC21A10
HNF4 α	Long-chain fatty acyl-coA thioesters, chenodeoxycholic acid	CYP2D6	Proteins involved in glucose transport and metabolism
LXR α,β	Oxysterols	CYP7A1	ABCA1, ABCD2, ABCG1, ABCG4, ABCG5, ABCG8
PPAR α	Fibrates, fatty acids	CYP4A1, CYP4A3	ABCC3, ABCC4, proteins involved in glucose transport and metabolism
PPAR δ	Fatty acids, carboprostacyclin	?	?
PPAR γ	Fatty acids, eicosanoids, thiazolidinediones	CYP4B1	?
PXR (SXR)	Pregnenolone 16 α -carbonitrile, rifampicin, LCA	CYP1, CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP3A, CYP4F, carboxylesterase, MAO, CAT, FMOs, GSTs, UGTs, SULT2A	ABCB1, ABCC2
RAR α,β,γ	Retinoic acids	CYP26A1	?
RXR α,β,γ	9-cis-retinoic acid	?	?
VDR	1 α ,25-dihydroxy-vit D ₃	CYP24A1, CYP27B1	?

Further details of xenobiotic-metabolizing enzymes (XMEs) receptors that regulate XMEs and/or xenobiotic-related transporters (XRTs) can be found in several excellent reports^{61,132-135}. *Only one (or very few) members of the CYP2A and CYP2C subfamilies are upregulated by the aryl hydrocarbon receptor (AHR). All the gene products in this table are given their official names according to the HUGO gene nomenclature homepage. '?' denotes that XMEs and XRTs are expected to be regulated by this XME receptor, but that none have been identified to date. CAR, constitutive androstane receptor; FXR, farnesoid X receptor; HNFs, hepatocyte nuclear factors; LCA, the toxic bile acid lithocholic acid; LPS, lipopolysaccharide; LXRs, liver X receptors; PAHs, polycyclic aromatic hydrocarbons; PHAHs, polyhalogenated aromatic hydrocarbons; PPARs, peroxisome proliferator-activated receptors; PXR, pregnane X receptor; RARs, retinoic acid receptors; RXRs, retinoid X receptors; TCPOBOP, 1,4-bis[2-(3,5-dichloropyridyloxy)]benzene; VDR, vitamin D₃ receptor.

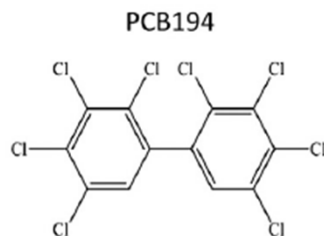
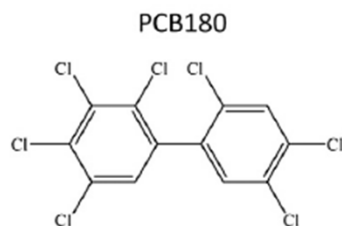
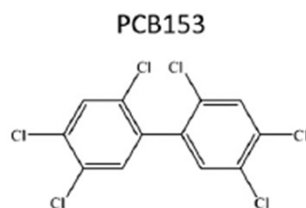
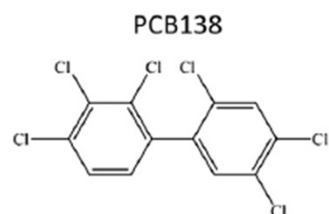
Nebert et Dalton, 2006, Nat. Rev. Cancer

Příbuzné toxikanty mohou aktivovat různé typy jaderných receptorů

- koplanární vs. nekoplanární (nedioxinové PCB);



aktivace AhR vs. aktivace CAR a PXR



Faktory modulující toxicitu

- průnik toxikantu do organismu;
- perzistence a tkáňově specifická distribuce;
- schopnost indukovat vlastní metabolismus;
- bioaktivace vs. detoxikace;