

KBB/TOX – Toxikologie

(pro navazující studium)

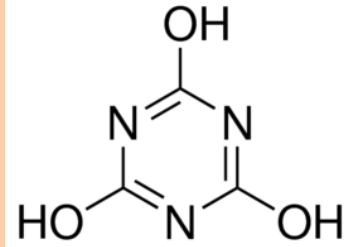
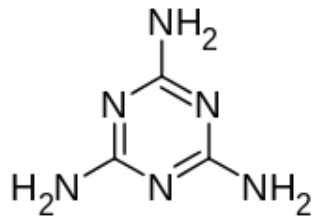
**Přednáška č.9 – Látky s nežádoucími
vlivy na matku a vyvíjející se plod II.**

Radim Vrzal

Katedra buněčné biologie a genetiky

Potravní doplňky

Melamin a kyanurová kyselina

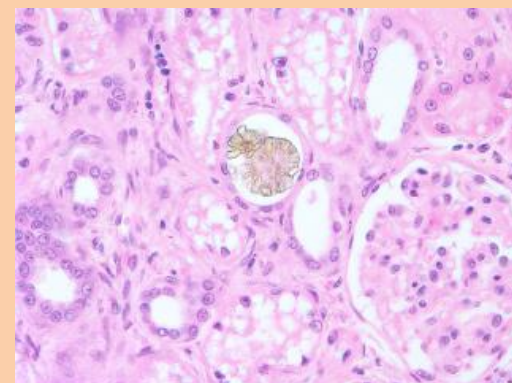
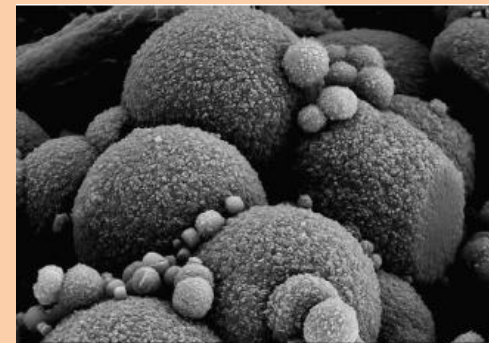
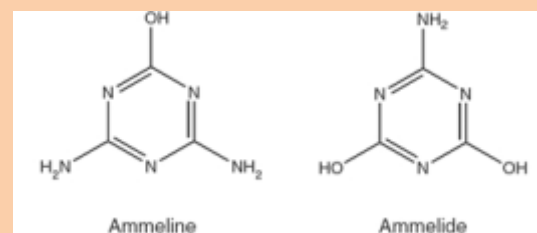


- Na výrobu plastů, lepidel, čistících prostředků, žlutých barev (Yellow 150)
- Polymeruje s formaldehydem za vzniku odolných pryskyřic
- Kyanurová kyselina je meziprodukt při výrobě melaminu - ke stabilizaci chloru v bazénech
- Melamin obsahuje 67% váhových dusíku → **falešná náhražka proteinů**
- **2007 USA** - renální selhání u psů a koček po požití komerčních granulí (pšeničný lepek (wheat gluten) a rýžový protein (rice protein) – úmyslně chybné označení)



Melamin a kyanurová kyselina

- **Biodostupnost** Melaminu je nízká (kočky a psy) - kontaminanty: kyanurová kyselina, ammelid, ammelin
- Přes 150 produktů pro domácí mazlíčky staženo
- Obsah až 3200ppm melaminu a 600 ppm kyanurové kyseliny
- **Příznaky u zvířat:** nechutenství, zvracení, polyurie, letargie - Nálezy kulatých zeleno-hnědých krystalů v močovém sedimentu (složení: 70% kyanurové kyseliny a 30% melaminu)
- **2008** – přítomnost v mléčných produktech pro děti v Číně !! – obchodování ➔ 70 zemí světa
- 2.5-2563 ppm v komerčně dostupných mléčných prášcích
- Odhad: zasaženo 300 000 dětí , víc jak 52 000 hospitalizováno, 6 zemřelo – stáří 6-18 měsíců
- Meziprodukty degradace a výroby melaminu nebyly významné kontaminanty
- **Litiázy:** melamin a kyselina močová po 3-6 měsících (2-18 mm)



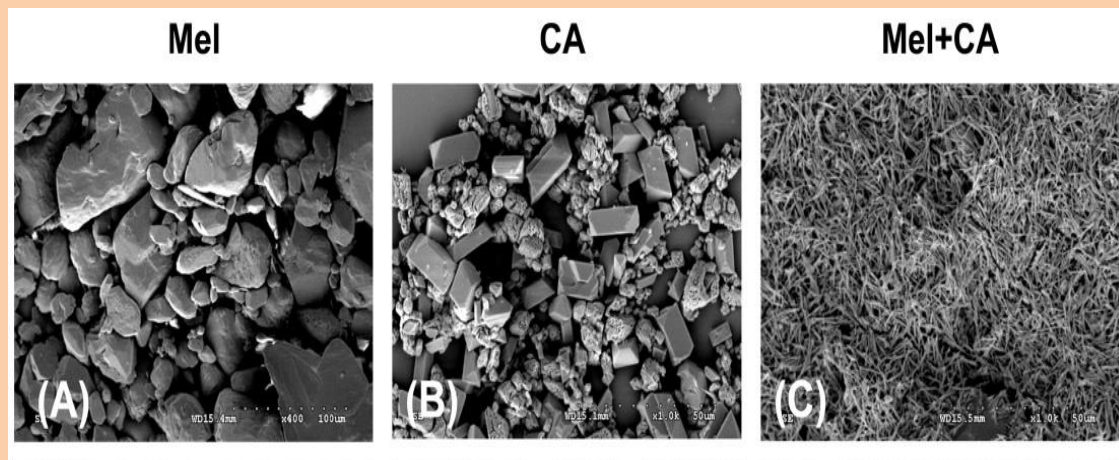
- **Příznaky u dětí:** zvýšená či snížená frekvence močení, anurie, hematurie, litiázy v moči – mnoho dětí asymptomatických

Melamin a kyanurová kyselina (CA)

- Rychlá absorpce a exkrece močí, nevýznamný metabolismus
- Nedochází k akumulaci v těle
- Melamin je eliminován z 90% během 1 dne
- Vylučován dobyt看kem do mléka, ukládá se do vajec slepic během 1-2 dnů po expozici

Při **současném podání** (M+CA) – tvorba krystalů s mřížkovitou strukturou při pH 5.8

- Renální obstrukce s následným zvýšením intrarenálního tlaku



- Nízká toxicita pro potkany a myši – LD50=3200-7000mg/kg – melamine, podobně i u CA
- Nevykazuje mutagenní či teratogenní vlastnosti
- Kojenci citlivější než dospělí – 5-8x- vylučují více kyseliny močové

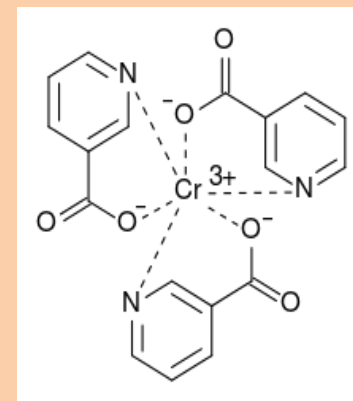
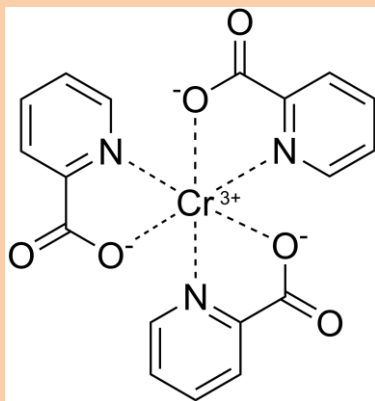
Léčba - pití tekutin, alkalizace moči ke zvýšení pH na 6-7.8
intravenosní aplikací NaHCO₃, citrátu draselného

Vybrané rostlinné přípravky a nutraceutika

- Použití v době těhotenství
 - zklamání či nedůvěra v bezpečnost standardní farmakoterapie
 - osobní kontrola nad zdravím
- Některé mají mírný dopad, jiné jsou silně teratogenní

Doplňky s obsahem chromu

- Cr^{3+} - esenciální pro normální metabolismus sacharidů a lipidů
- blahodárné účinky na regulaci insulinu, kardiovaskulární nemoci (nižší hodnoty pro diabetiky)
- s věkem hladina klesá

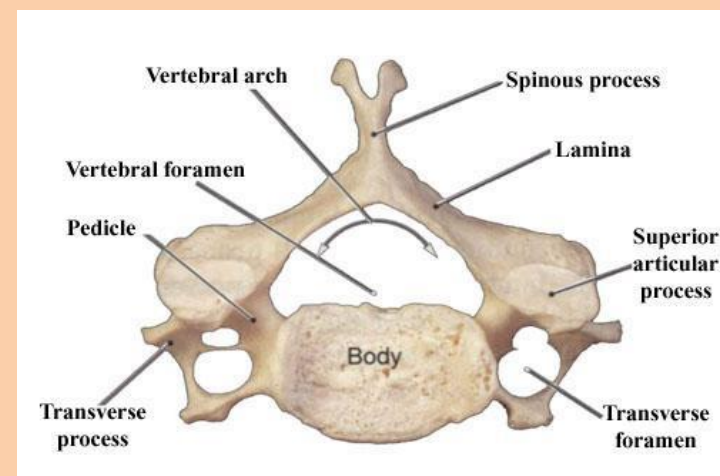


Cr^{3+} doplňky doporučeny těhotným ženám u kterých byl diagnostikován gestační diabetes !!!

Doplňky s obsahem chromu

Pikolinát chromitý (CrPic)

- Podporuje ztrátu tuků a nárůst svalů u člověka
- U potkanů asociován s oxidativním poškozením DNA, mutacemi a fragmentací
- U myši CrPic 200mg/kg denně - 6-17 dní březosti – nárůst rozdělení šíjového oblouku u plodů
- Alternativní studie stejné skupiny o 2 roky později – nic nenašla



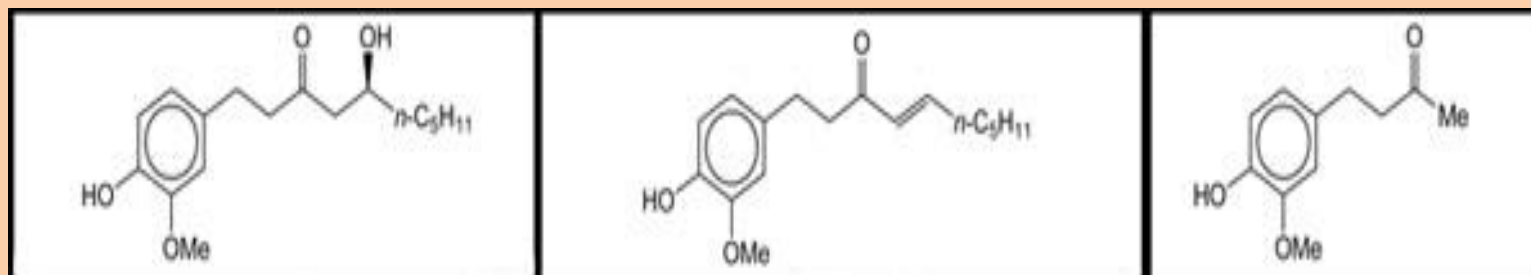
Polynikotinát chromitý

- dvou-generační studie neodhalila na potkanech žádné abnormality či mortalitu až do dávek 60 ppm (8 mg/kg/den) po dobu 10 týdnů, během páření, gravidity, laktace



Zázvor (Ginger; *Zingiber Officinale*)

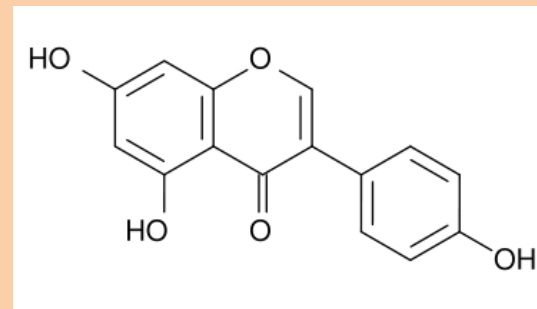
- V Asii, Indii – na léčbu potíží se žaludkem, průjmem, zvracením, artritidou
- Po celém světě na nachlazení, chřipku, bolesti hlavy či bolestivou menstruaci
- Doporučení na léčbu kinetózy (motion sickness), nauzeu či zvracení spojené s těhotenstvím či chemoterapií
- Aktivní složky: zingerone, shogaols, gingerols



- zvyšují motilitu GIT a mají antipyretické, sedativní, antibakteriální vlastnosti
- Některé studie naznačují zvýšení frekvence spontánního abortu !!
- Potkani – zázvorový čaj během březí ➔ dvojnásobná ztráta embryí !!! Přeživší plody těžší než u kontrolní skupiny, vyvinutější kostra.

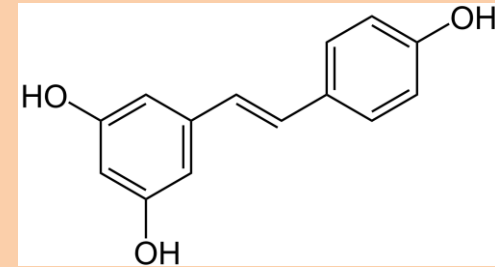
Genistein

- Fytoestrogen s výskytem v sóji a sójových produktech
- Vysoká konzumace v Asii
- Potenciální riziko kvůli podobnosti s estradiolem, afinita k ER cca 100x nižší
- Whole embryo culture assay (WEC) popsala malformace pro koncentrace 10 a 100µg/ml, avšak *in vivo* GIT cestou nezaznamenala žádné nežádoucí účinky
- Studie s až 1000mg/kg/den od 6-20 dne březí → **mateřská toxicita** (snížená hmotnost, konzumace stravy) a zvýšená mortalita mláďat (snížená hmotnost, snížení příjmu mléka)
- NOAEL byl navržen 100 mg/kg/den perorálně – FDA schvaluje jako bezpečné !!! (GRAS, <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/>)



Resveratrol

- Nachází se v hroznech a ostatních rostlinách
- 1992 – spojen s Francouzským Paradoxem
- Některé studie spojují s inhibicí vzniku rakoviny, prodloužením délky života
- In vitro působí jako agonista/antagonista ER v závislosti na typu tkáně či přítomnosti isoform ER α / β
- **Studie 1:** Potkani po dobu 90dní dostávali 20mg/kg – snížení průměru ale zvýšení hustoty semenných kanálků, nárůst v počtu spermií a plazmatické hladině LH, FSH, Testosteronu
- **Studie 2:** 3 mg/l v pitné vodě, 4 týdny – pokles v hmotnosti semenných váčků a sleziny u samců v F0, F1, žádný vliv na počet spermií

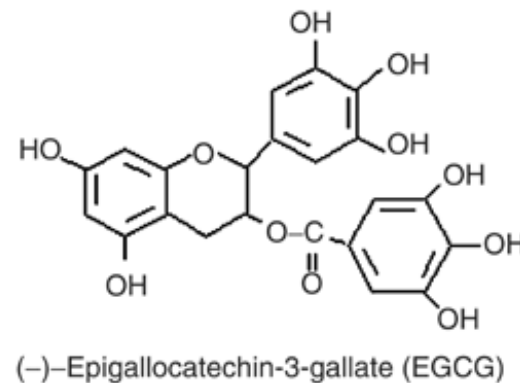
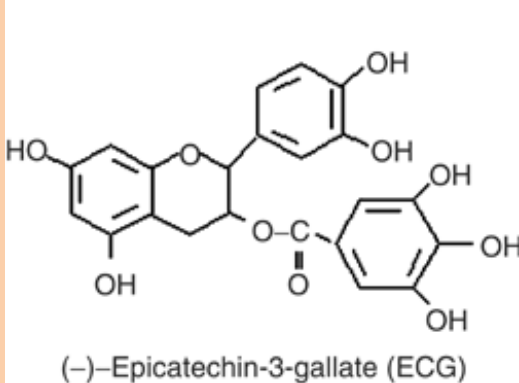
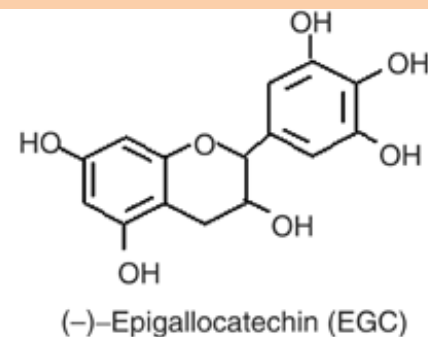
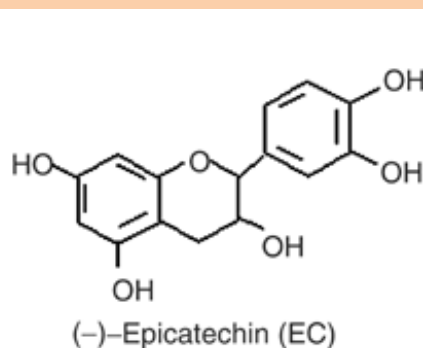


Zelený čaj

- Včetně katechinů byl prokázán že má protinádorové vlastnosti
- Pití během těhotenství se nedoporučuje → kofein
- 1 studie: vznik defektů neurální trubice



- Většina studií na potkanech: EGCG podáván skrz GIT či SC = žádná fetální toxicita
- Indukuje CYP2B a snižuje CYP3A expresi → vliv např. na toxicitu cyklofosfamidu – zvýšení teratogenních účinků !!!

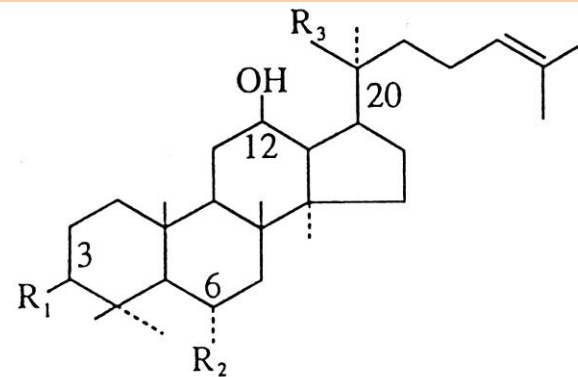


Ženšen (Gingseng, *Panax ginseng*)

- V čínské medicíně ke zvýšení rezistence na stress a infekce
- Též na léčbu nespavosti, anémie, chronické únavy, DM, angíny
- In vitro důkaz o teratogenicitě na ginsenosidy



2 generační studie na potkanech –
extrakt ženšenu do dávky 15
mg/kg/den → žádný důkaz toxicity

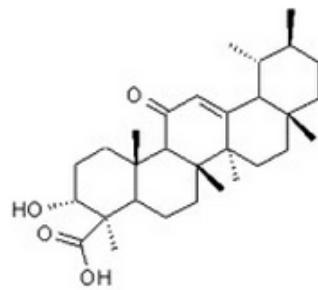


<i>Ginsenosides</i>	R ₁	R ₂	R ₃
Ginsenoside-Rb ₁	-O-Glc ² -Glc	-H	-O-Glc ⁶ -Glc
Ginsenoside-Rc	-O-Glc ² -Glc	-H	-O-Glc ⁶ -Ara (pyr)
Ginsenoside-Re	-OH	-O-Glc ² -Rha	-O-Glc
Ginsenoside-Rf	-OH	-O-Glc ² -Glc	-OH
Ginsenoside-Rg ₁	-OH	-O-Glc	-O-Glc

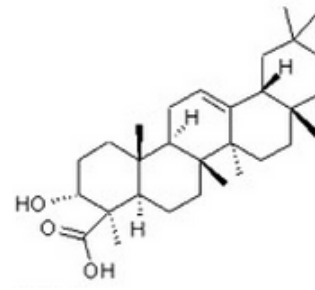
Kadidlovník pilovitý (Boswellia Serrata)

- Protizánětlivé účinky žvýkačky z pryskyřice
- Boswelové kyseliny – AKBA inhibuje 5-lipooxygenasu
- Doposud žádné známé toxické účinky na matku či plod.

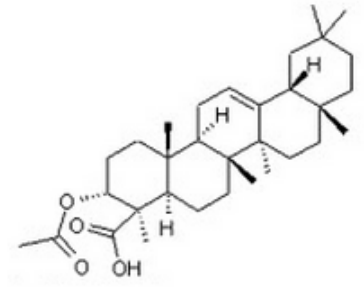
Boswellia Serrata



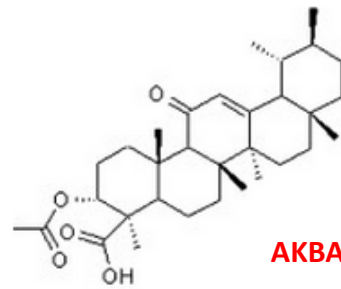
11-keto- β -Boswellic Acid



α -Boswellic Acid

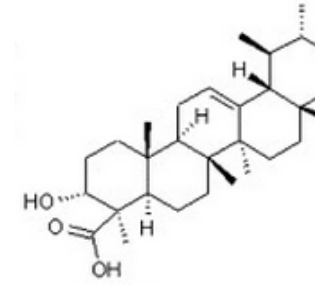


Acetyl- α -Boswellic Acid

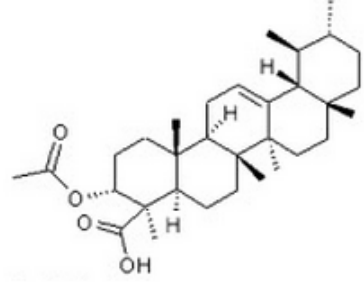


AKBA

3-O-Acetyl-11-keto- β -Boswellic Acid



β -Boswellic Acid

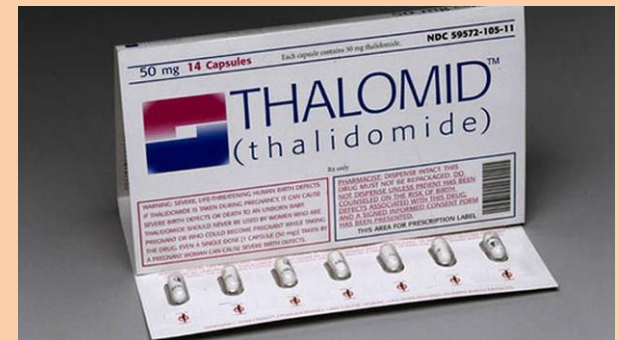
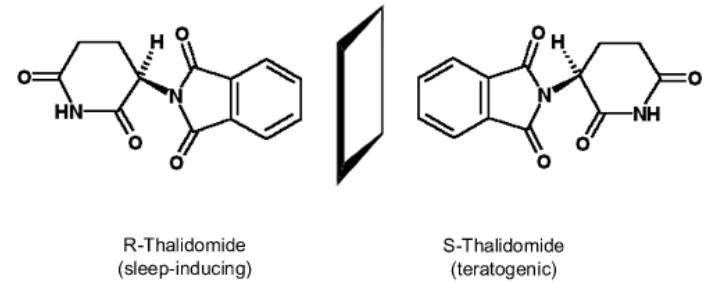


Acetyl- β -Boswellic Acid

Pharmaceutika

Thalidomid (α -N-[phthalimido] glutarimide))

- derivát glutamové kyseliny, obsahuje chirální centrum
- K léčbě nevolností u těhotných žen → 1957-1961 – víc jak 10 000 dětí postižených
- V současnosti k léčbě lepry, Crohnovy nemoci, rakoviny, HIV
- Nemá vliv na tvorbu embrya u hlodavců
→ **důležitost druhových rozdílů**
- *In utero* expozice thalidomidu ovlivňuje končetiny, uši, oči, genitálie, srdce, ledviny, střevo, CNS = **Thalidomidová embryopatie/syndrom**
- Úmrtnost dětí do 1 roku života – 40%
- Nejcitlivější období na účinky Thalidomidu – **20-36 den po oplodnění**, expozice po této době nemá již zřejmý vliv, před touto dobou = potraty



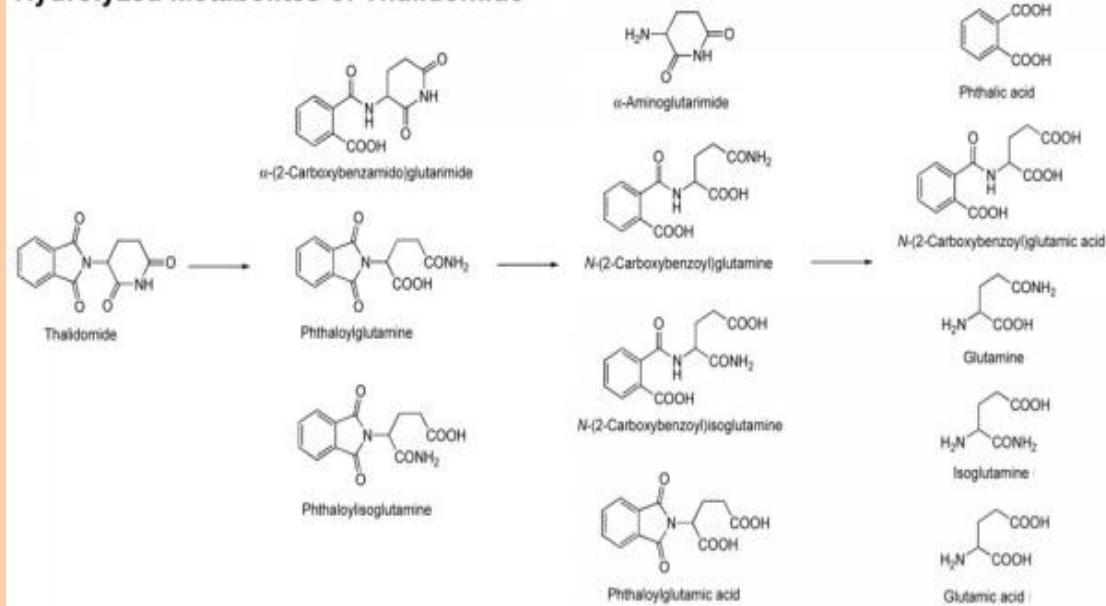
Thalidomid (α -N-[phthalimido] glutarimide)

- Přes 90% přeživších vykazuje deformity končetin – redukce, symetrické
 - amélie = celková nepřítomnost končetin
 - fokomelie = výrazné zkrácení končetin
- Postižení očí = katarakty, malé oči, nepřítomnost očí
- Postižení uší = nepřítomnost vnějšího ucha
- CNS – není většinou postižena, nárůst epilepsie a autismu v pozdějším stádiu života



- S(-) – teratogenní
- R(+) – sedativní
- v těle vzájemně přechází jeden v druhý
- je hydrolyzován na min. 20 metabolitů a následně je eliminován

Hydrolyzed Metabolites of Thalidomide

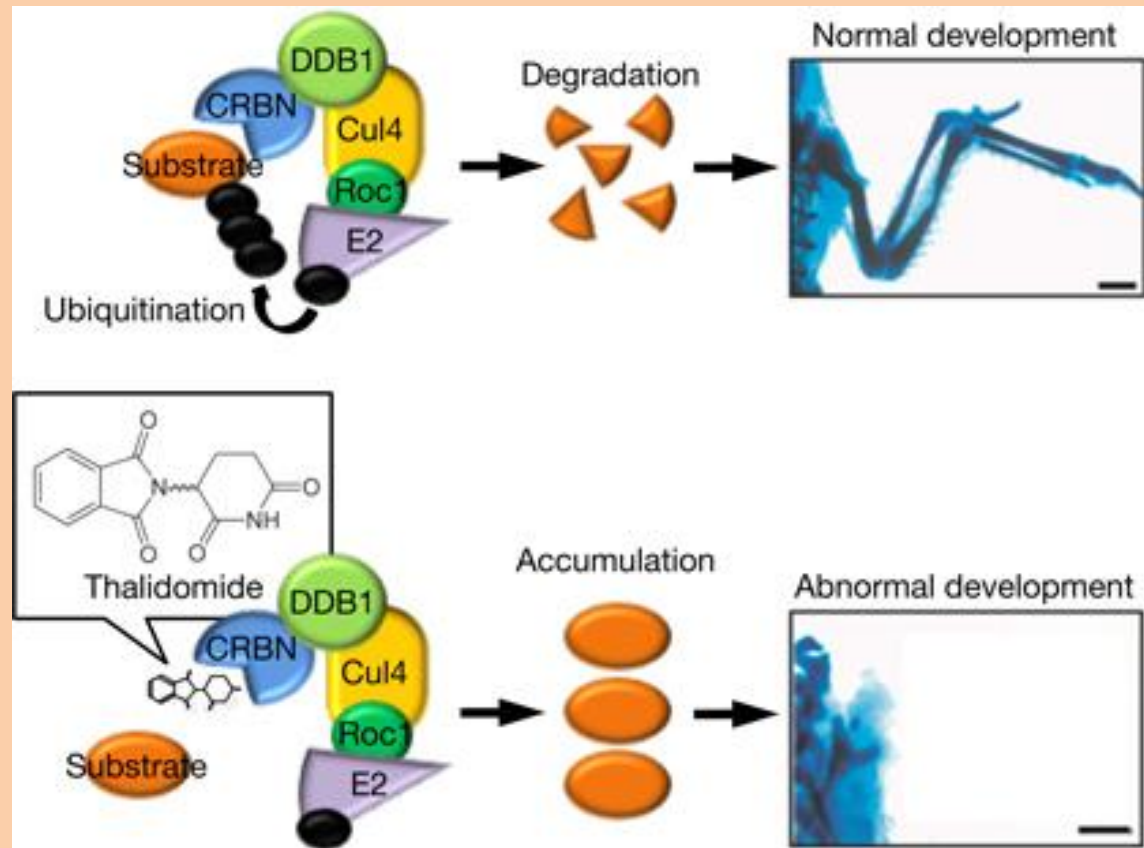


Thalidomid (α -N-[phthalimido] glutarimide)

- 30 modelů působení
- Ovlivňující vývoj končetin = antiangiogenní !!
- Molekulární cíl = protein cereblon
- **Cereblon** = součást E3 ubikvitinasového komplexu, funkčnost zatím není zcela pochopena
- Thalidomid upreguluje a downreguluje přes 2000 genů včetně markerů tvorby cév a markerů cytoskeletu



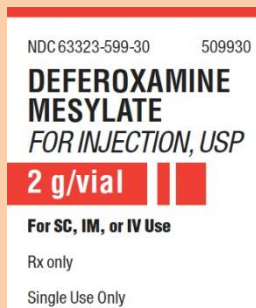
V době tvorby tkání a rychlé angiogeneze vede přítomnost thalidomidu k selhání tvorby cév, indukci buněčné smrti u buněk vyžadujících kyslík a nutrienty



Kovy

Hliník

- Toxicita: osteomalacie, anémie, narušení neurologických procesů (akumulace neurofilamentů)
- **Součást antacid**
- Během těhotenství - dyspepsie
- Přítomen jako hydroxid, nerozpustný ve vodě
- Velké dávky a přítomnost dalších složek stravy (laktát, citrát) zvyšují absorpci !!!
- AlCl_3 – embryotoxický, teratogenní hlodavcům
- $\text{Al}(\text{OH})_3$ – teratogenicita nebyla zjištěna u hlodavců → rozpustnost je klíčová
- Kombinace $\text{Al}(\text{OH})_3$ a kyseliny citronové → opožděná osifikace u plodů myší
- Maternální expozice hliníku může ovlivnit:
 - neurobehaviorální testy
 - zmenšení varlat, snížený počet spermií



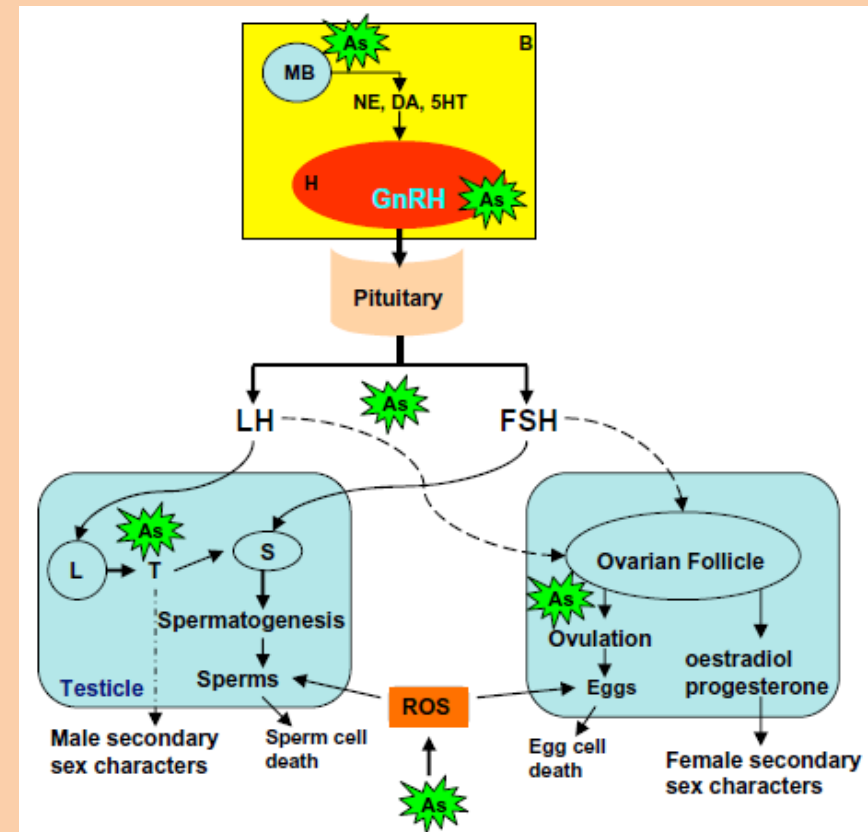
Snížení zatížení těla hliníkem – chelatační činidla (desferrioxamin) – neochrání před mateřskou a vývojovou toxicitou

Arsen

- Všechny formy přechází placentární bariérou – As^{3+} nejtoxičtější
- Transportován aquaglyceroporiny (AQP7/9) – varlata, ledviny, srdce, nikoliv Placenta !!
- GLUT1 – transport As - ledviny, játra, BBB, placenta
- GLUT4 – transport As^{3+} , monomethyl arsenová kyselina
- Fosfátový transportér
- Vyvolává oxidační stress – citlivé spermie → nižší počet, vazba na SH skupiny proteinů, As^{5+} - náhrada fosfátu při tvorbě ATP

Muži – nízký počet spemií, neplodnost, abnormální hormonální sekrece – poškození akrosomu

Ženy – potlačení steroidogeneze, degenerace ovárií, folikulů, nárůst meiotických aberací v oocytech, snížení FSH, LH, estradiolu



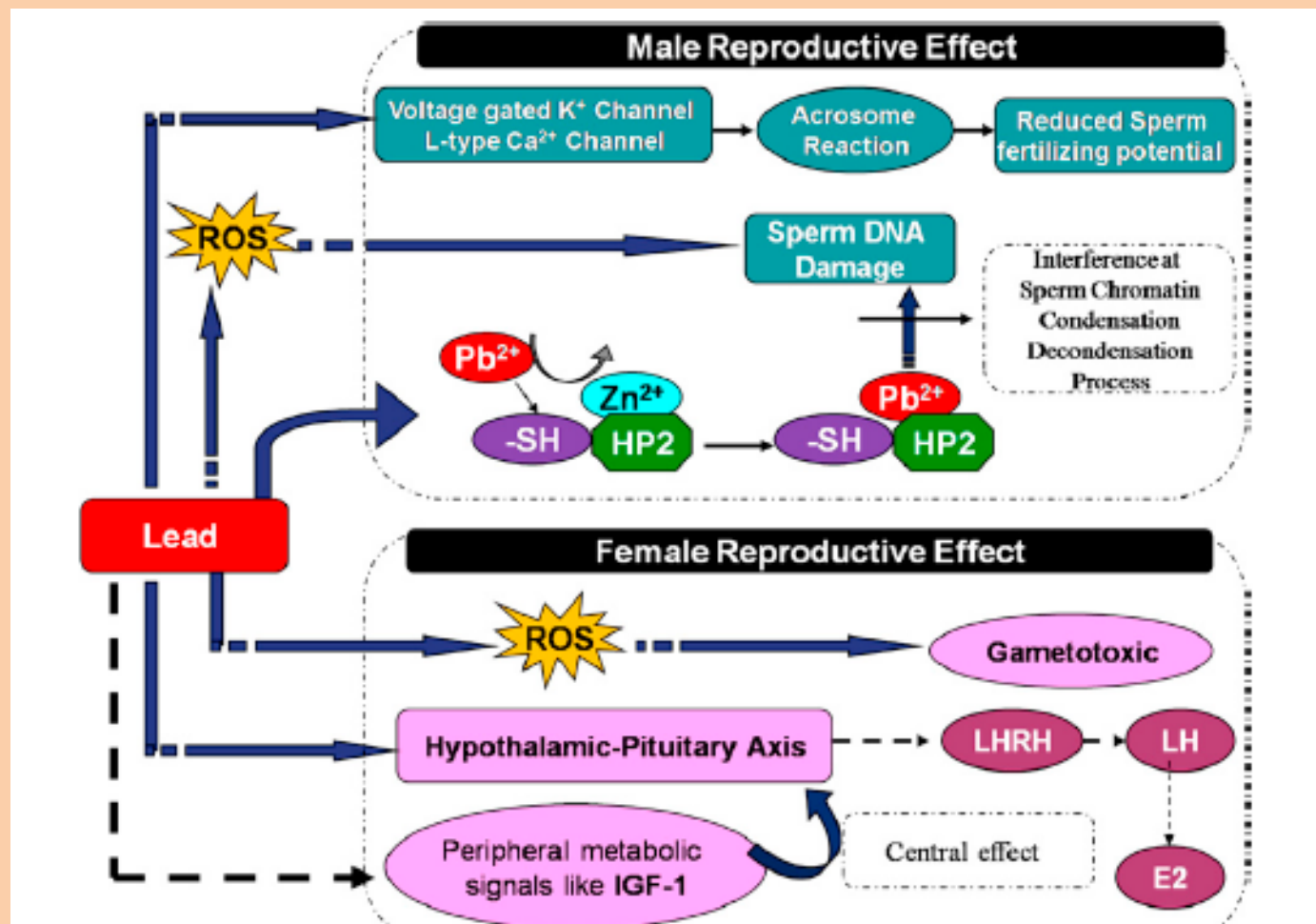
Olovo

Kovy

Muži – snížení kvality spermatu bez vlivu na endokrinní funkci (snížený objem, počet, motilita, seminální hladina zinku) v důsledku oxidativním stresem indukované peroxidace lipidů a DNA

Ženy

- Olovem indukovaná nedostatečnost IGF-1 s následným poklesem v LHRH, LH, estradiolu



Kovy

Mangan



- 12tý nejčastější v kůře Země
- **Výskyt:** Ve vodě, půdě, zemině - ve formě oxidů, silikátů, uhličitánů
- **Na výrobu:** oceli, baterií, additiv do paliv, produkci KMnO_4 a fungicidů
- **Potraviny:** ořechy, čaj, zrní, ovoce, zelenina
- Esenciální pro správnou funkci: imunity, homeostázu krevního cukru, reprodukci, trávení
- Součástí enzymů: MnSOD, argináza, fosfoenolpyruvát karboxykinázy
- **Mozek citlivý na mangan** – akumulace vede k degeneraci = „manganismus“ – klinicky a morfologicky podobný Parkinsonově chorobě = **psychiatrické poruchy** (dráždivost, agrese, halucinace), **motorické poruchy** (stuhlost, dystonie,)
- Není jen pracovní nemoc, ale vyskytuje se i u chronického selhání jater či deficiencie Fe

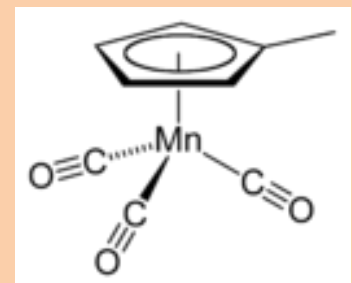
Mangan

- **reprodukční a vývojové defekty** – narušení plodnosti, libida a zvýšená impotence u pracovníků (expozice po dobu 1-19 let, prach s obsahem 0.97mg/m³)
 - informace pro ženy nejsou dostupné
- Expozice u dětí vede k poruchám chování, schopnosti se učit a pamatovat

Cesta vstupu potravou – zřídka jen při IV příjmu stravy, při poškození jater

- ovlivněn Fe – deficience zvyšuje absorpci
- pro celkovou populaci odhad z 1984 – 3800mg/den, absorpce 3-5%
- rizikové skupiny - vegetariáni (zrní, zelenina, ořechy)

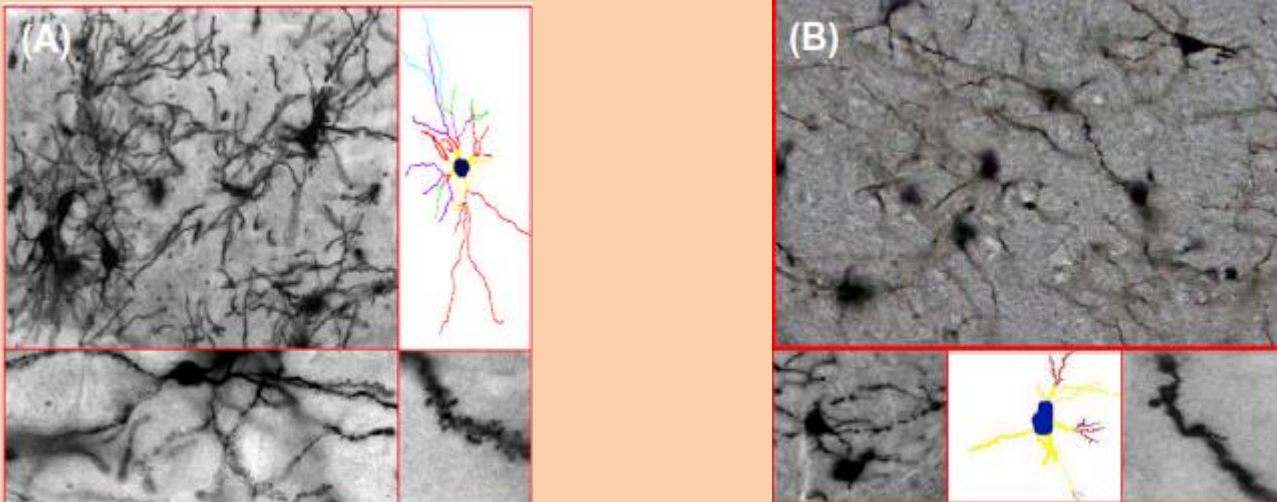
- **Cesta vstupu vzduchem** (oxidy Mn) – 0.02-1μm dolní cesty dýchací, >5μm- horní cesty dýchací – solubilizován makrofágy a dle oxidačního stavu transportován do krve (Mn³⁺ - vazba na transferin, Mn²⁺ vazba na albumin)
- exponování lidé v blízkosti továren, oblastí s vysokou hustotou provozu, automobilových pracovníků, taxikářů – spalování MMT
- Eliminace převážně žlučí (cirhóza)



Methylcyclopentadienyl trikarbonyl mangan

Mangan

- Mn vstupuje do CNS přes mozkomíšní mok
- BBB přestupuje za pomoci DMT-1, ZIP8 a receptoru pro transferin
- Hromadí se bazálních gangliích, frontálním kortexu, hypotalamu
- V mozku přijímán astrocyty a neurony
- Akumulace Mn v astrocytech pozměňuje uvolňování glutamátu a vede k **excitační neurotoxicitě**
- Hromadí se hlavně v mitochondriích (inhibice komplexů I-IV) → narušení oxidativní fosforylace a **tvorba ROS** – postižení hlavně dopaminergních neuronů



- **Léčba** - chelatací – EDTA – odstraní Mn z krve, nikoliv z mozku
- levodopa

Rtuť (Hg)

Kovy

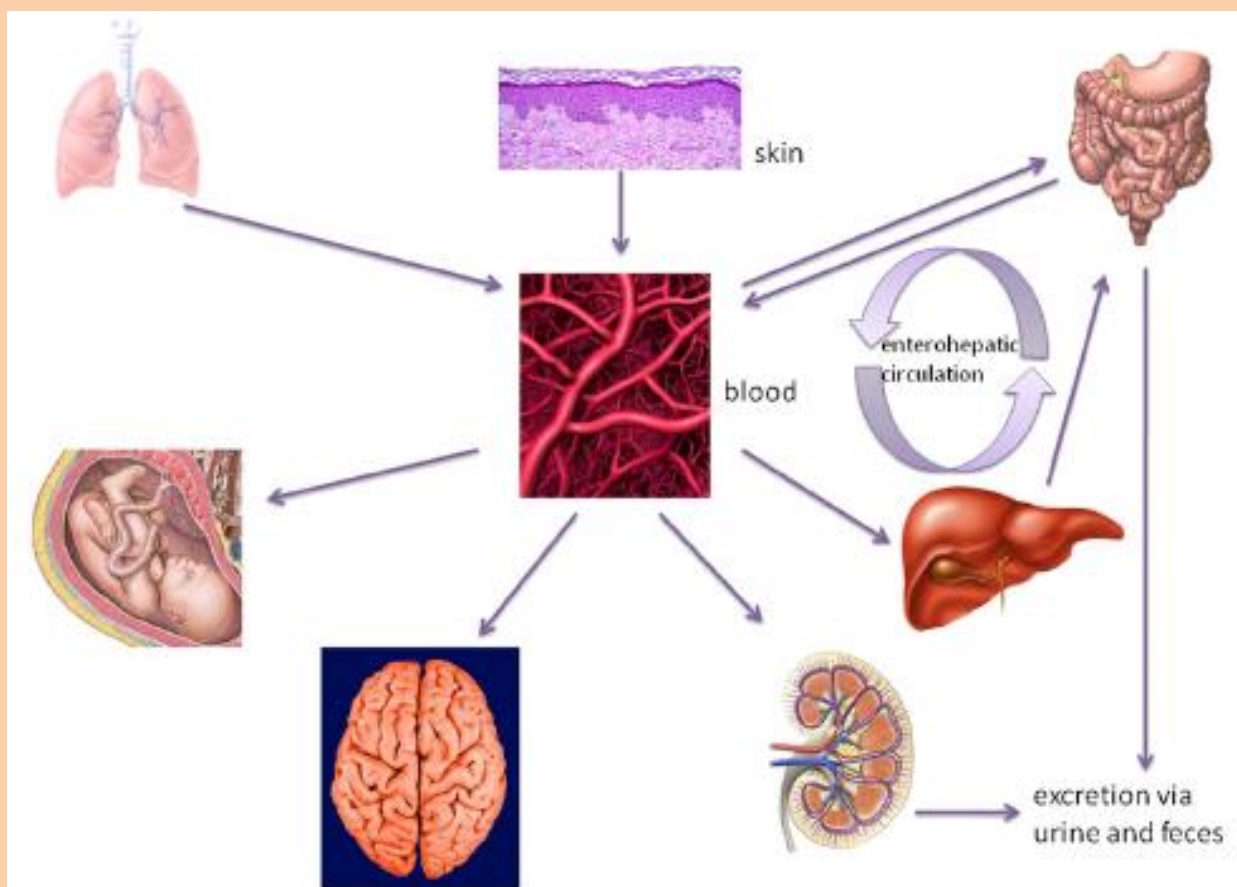
- Expozice převážně z ryb ve formě MeHg
- MeHg absorbován z 90%, poločas vyloučení cca 70 dní
- MeHg – akumulace v ERY – vazba na SH rezidua a beta řetězce Hemoglobinu

MeHg je demethylován v mozku na anorganickou rtuť - hromadí se v astrocytech a mikroglích

- Eliminace většiny MeHg játry do žluči

Cca 5% MeHg v krvi matky je exkretován do mléka

- MeHg prostupuje placentou a hromadí se v plodu



Rtuť (Hg)

- MeHg ovlivňuje převážně vyvíjející se mozek
- Opožděný nástup symptomů oproti expozici
- U dospělých – MeHg ovlivňuje převážně senzorický a motorický kortex, mozeček
- U *in utero* a postnatální expozice – širší poškození, kortikální atrofie, smrštění bílé hmoty (němost, slepota, retardace, záchvaty) → důsledek nedokonale vyvinuté BBB u novorozenců až do 1 roku života
- MeHg – inhibice glutathion peroxidázy (GPX) s následkem peroxidace lipidů
 - inhibice myelinace
 - inhibice neurotransmise

Léčba – odstranění chelatací – dimerkaptosukcinová kyselina (DMSA) – pro anorganickou rtuť

Kovy

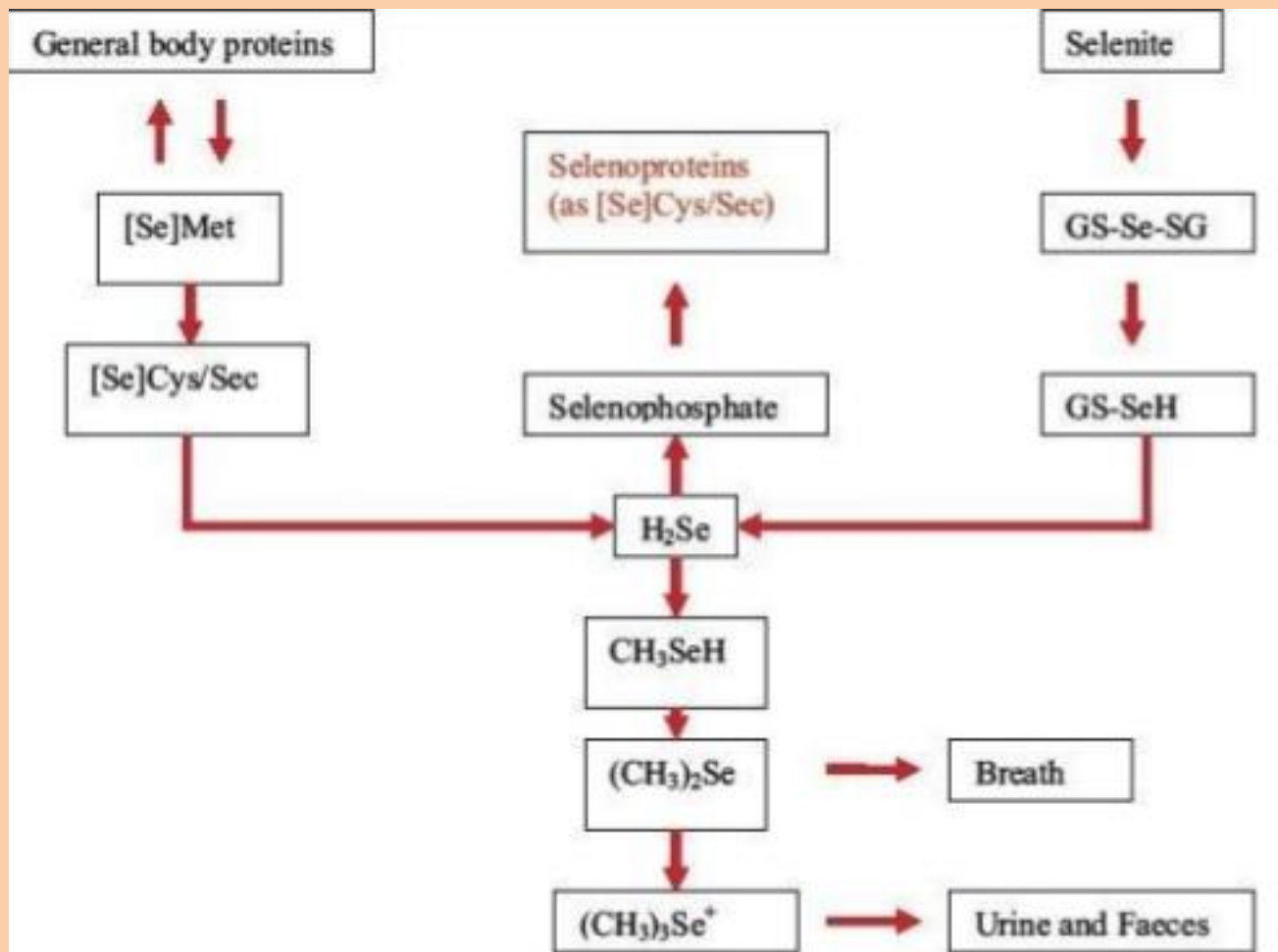
Selen

- Polokov s úzkým rozpětím bezpečnosti
- Deficience v místech s nízkou koncentrací v půdě + nedostatečností vitamínu E
- Výskyt jako seleničitany, selenany, selenidy
- **Absorpce:** hlavně v duodenu; seleničitany pasivní difúzí, selenany kotransportem s Na^+ , selen ve formě AK – aktivní transport



Selen

- **Distribuce** – závislá na formě: selenomethionin inkorporace do proteinů; nejvíce Se v ledvinách a játrech
- Účinně transportován do plodu přes placentu !!!!
- Přestup do mléka
- **Metabolismus:** v Ery na hydrogen selenid, následně na mono-, di-, trimethyl selenid za pomoci SAM
- **Eliminace:** moč a výkaly, u zvířat s jedním žaludkem eliminace močí převažuje

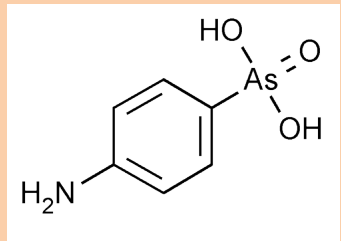


Selen

- **působení:** deplece GSH a SAM, produkce ROS, inkorporace Se do proteinů na místo síry s následkem narušení buněčných funkcí
- **Akutní otrava** 2.2-20mg/kg a více – v závislosti na formě (2-8 mg/kg seleničitanu u přežvýkavců)
- **Příznaky** 8-10 hodin po pozření : česnekový zápach v dechu po methylovaných selenidech, neklid, letargie, svěšené uši, slinění, vodnatý průjem, horečka, pocení, tachykardie
- **Chronická selenóza:** deprese, slabost, anémie, ztráta vlasů, anorexie, smrt
- U zvířat intoxikace vede k potratům, teratogenním účinkům – např. u drůbeže – deformity nohou, křídel, zobáku, očí
- **Varlata jsou specifický cíl pro Se** – podílí se na spermatogenezi a mužské fertilitě
 - deficiencie Se = změna tvaru spermatozoí, bičíku (u potkanů = testikulární atrofie, reversibilní)
 - selenoproteiny I, V, W, K, 15, S – role ve varlatech většinou neznámá

Léčba

- není specifický mechanismus – podpůrná léčba
- vitamin E – krátce po expozici může snížit radikálové poškození
- arsanilová kyselina zvyšuje eliminaci žlučí



- nízkoselenová dieta s vysokým podílem proteinů – léčba chronické selenózy

Slovo závěrem....

Vztah matka a dítě

....vydrží na věky !!!!



Použitá literatura

Gupta Ramesh C.: Reproductive and developmental toxicology, ,
1st ed, 2011

Ji Yeon Son et al: Evaluation of renal toxicity by Combination
exposure to Melamine and Cyanuric acid in Male Sprague-
Dawley Rats, 2014, Toxicological Research