

# Inovace studia molekulární a buněčné biologie reg. č. CZ.1.07/2.2.00/07.0354



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Investice do rozvoje vzdělávání

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

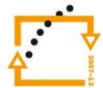


Investice do rozvoje vzdělávání

# ZTOX / Základy toxikologie



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Investice do rozvoje vzdělávání

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*



Investice do rozvoje vzdělávání

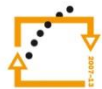
# Orgánová toxicita IV. – Endokrinní, kožní, reprodukční toxicita

Radim Vrzal

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*



Investice do rozvoje vzdělávání

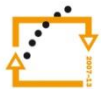
# Seznámení s toxickými účinky na hormonální, kožní a reprodukční systém

## Endokrinní disruptor, Dermatitida, Chloracne

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Toxicita endokrinního systému

Endokrinní systém – ovlivňuje systémy specifické pro určitý druh činnosti

- k udržení homeostázy

Toxicita spojena s odlišným vývojem, růstem, reprodukcí

| Hormone Group    | Example               | Origin           | Regulated Process                                                                                             |
|------------------|-----------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Androgens        | Testosterone          | Testes, adrenals | Sexual differentiation, fertility, secondary sex characteristics, sexual function, libido                     |
| Estrogens        | 17 $\beta$ -Estradiol | Ovaries, testes  | Sexual differentiation, fertility, secondary sex characteristics, bone density maintenance, blood coagulation |
| Glucocorticoids  | Cortisol              | Adrenals         | Bone formation, wound healing, growth, development                                                            |
| Thyroid hormones | Thyroxine             | Thyroid gland    | Fetal brain and bone development, oxygen consumption, gut motility                                            |



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Investice do rozvoje vzdělávání

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Endokrinní systém

= Uspořádání žláz produkujících hormony, které regulují tělesné funkce

- Funkce
  - zachování homeostázy (reprodukce, metabolismus, produkce energie)
  - fyziologická progrese (fetální vývoj, růst)
- Musí zachytit signály a přenést je dovnitř těla

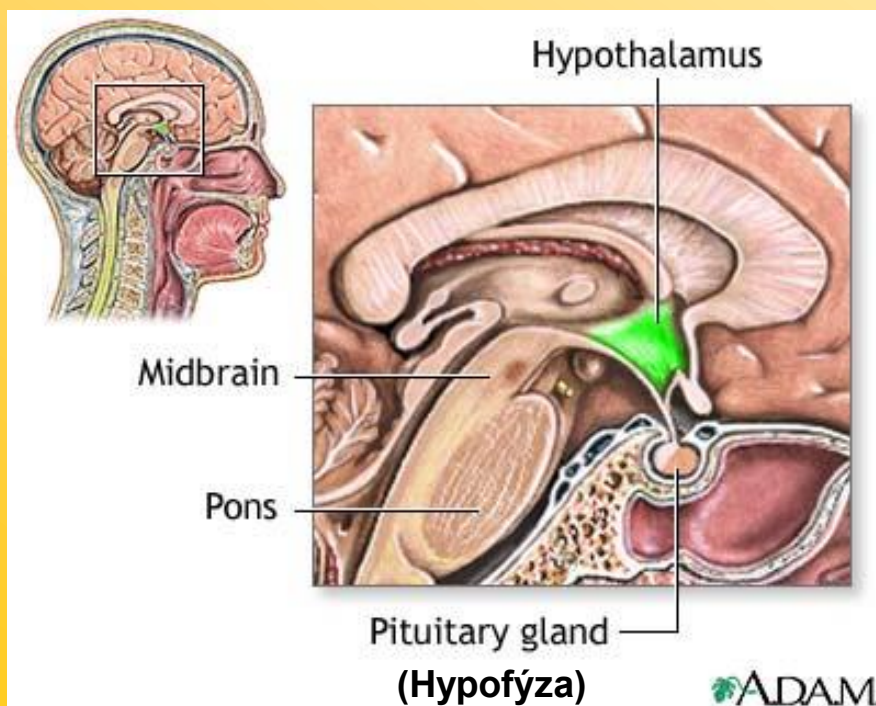
- Interní

- Externí → např. zahájení reprodukce jako důsledek změny teploty prostředí či délky dne u některých druhů



# Endokrinní systém II.

**Přenos signálu začíná v mozku – hypothalamus**  
– **sekrece peptidových hormonů** – rychlá syntéza i degradace → **okamžitá, krátkotrvající** odpověď

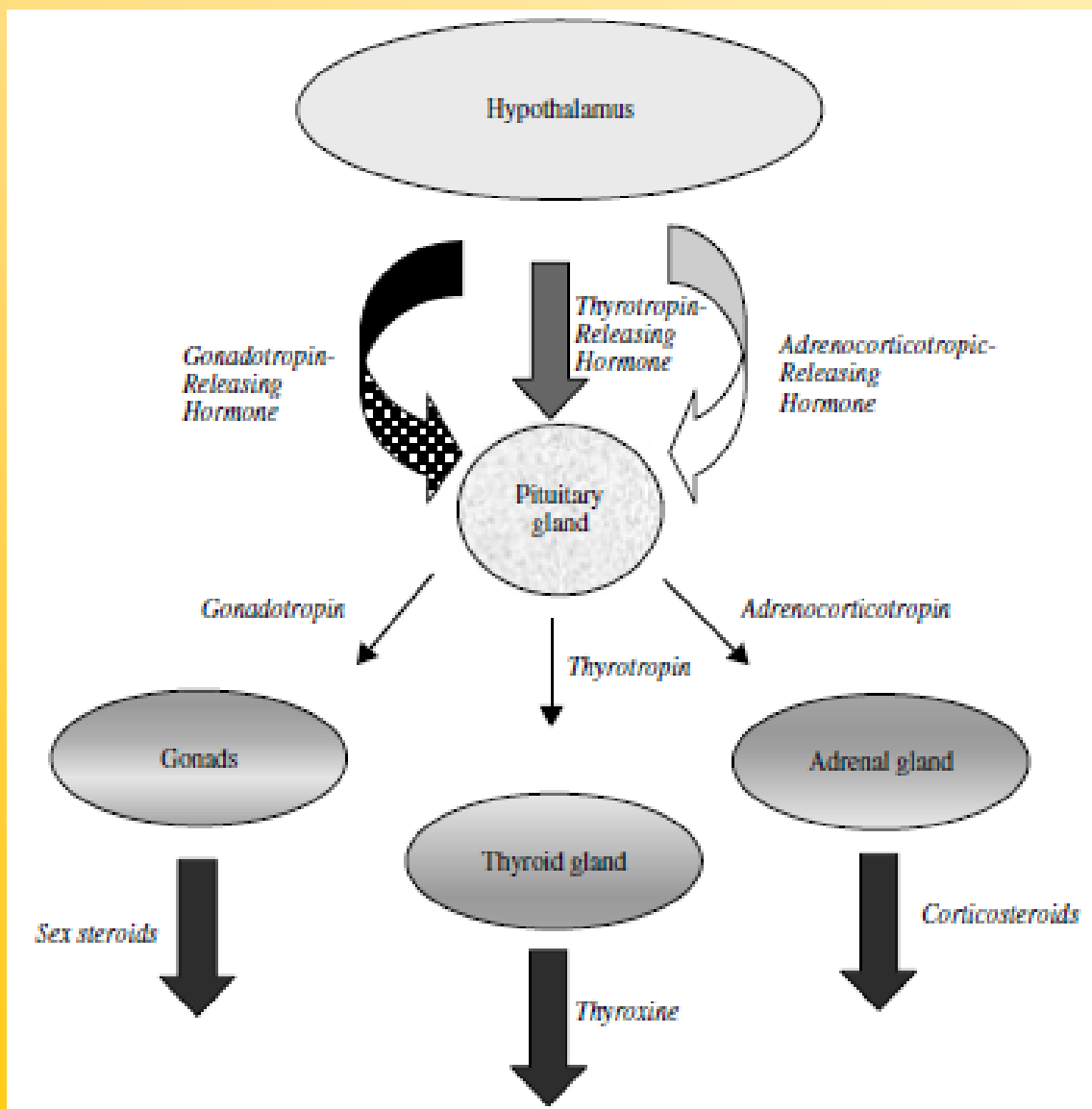


-GHRH – „hormon uvolňující růstový hormon“ (+)  
-Somatostatin (-)

→ Uvolňovány v pulsech  
→ Stimulace / Inhibice sekrece růstového hormonu uvolňovaného z hypofýzy

**Sekrece hormonů – asociace s spánkem, ovulací, sexuálním chováním**

# Endokrinní systém III.



OSY :  
Hypothalamus –  
Hypofýza -  
Gonády

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

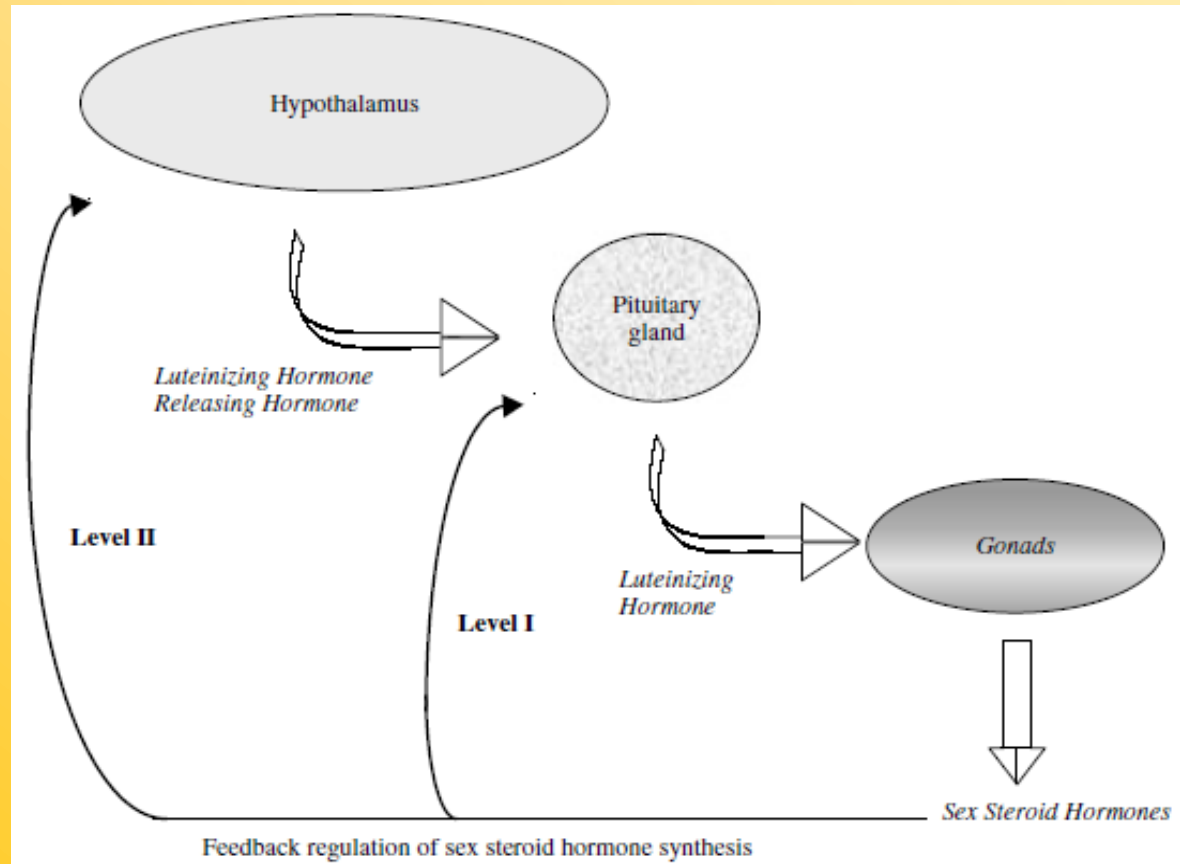


OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

# Endokrinní systém IV.



Výhoda signální kaskády:

- Několik míst pro přísnou regulaci (např. testosteron)

Typy hormonů:

- Peptidové hormony = rychlá syntéza/degradace - Rychlá signalizace přes membránově vázané receptory

- Steroidy – stabilnější, nutný vstup do buněk, delší doba odezvy

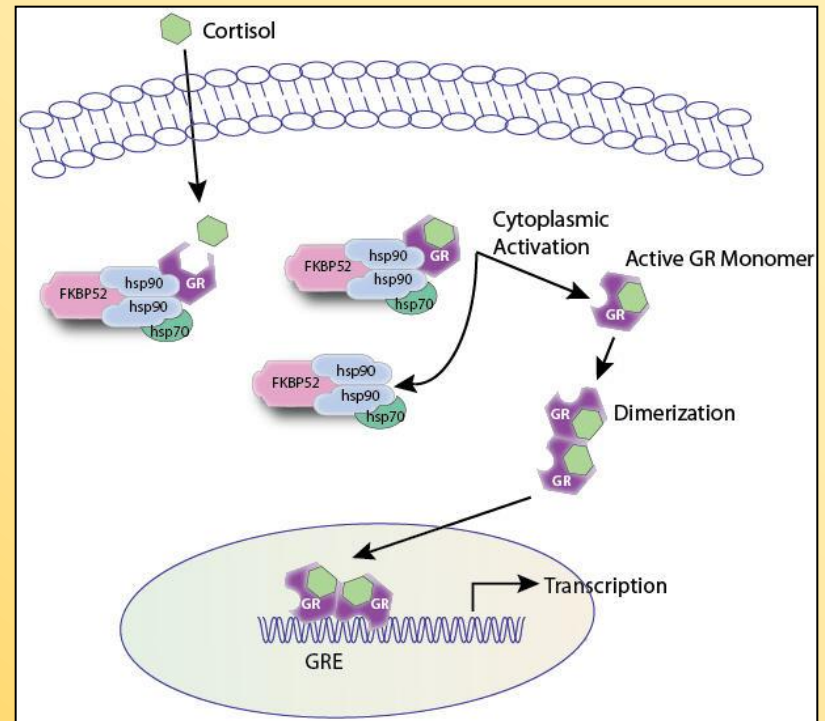
*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Endokrinní systém V.

## Jaderné receptory

### SUPERRODINA

- Cytosolická lokalizace – GR, PR, AR, MR - asociace s HSP
- Jaderná lokalizace – VDR, TR, RAR
  - asociace s chromatinem, heterodimerizace s RXR
- ER – jaderná lokalizace, homodimerizace



### Ligandem řízené transkripční faktory !!!

Strukturní podobnost ligandů s xenobiotiky

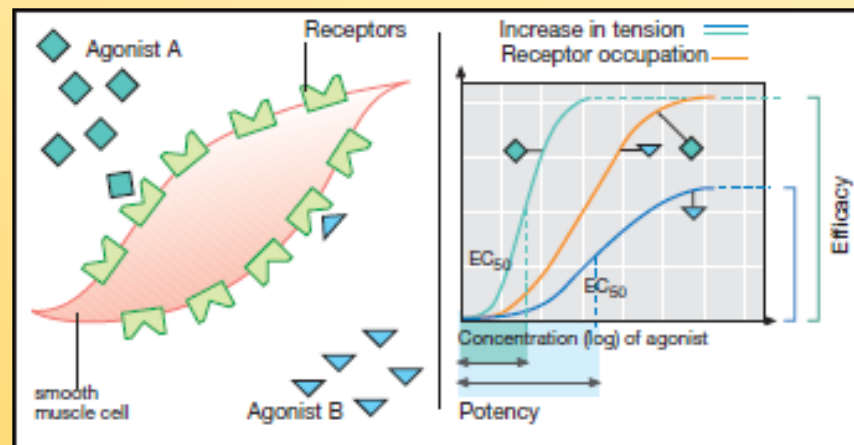
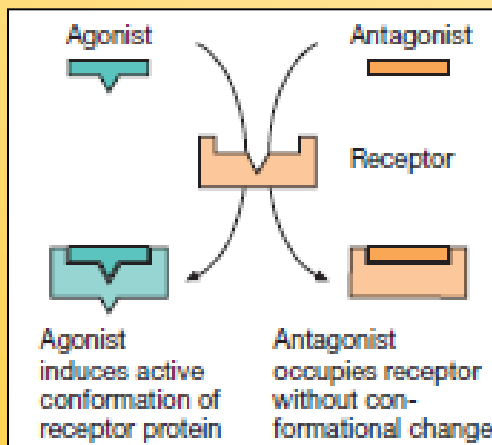


agonista vs antagonist

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Endokrinní systém VI.

## Agonista vs. antagonist

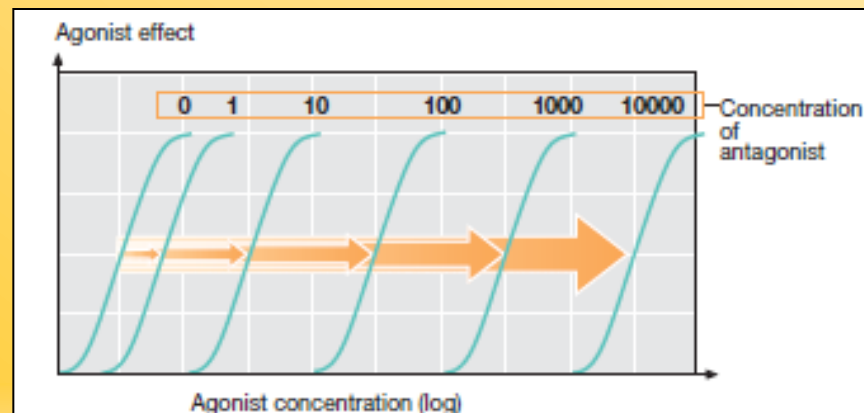


**Agonista** – afinita k receptoru a konformační změna vedoucí k biologické odpovědi

**Parciální agonista** – nižší účinnost, neschopnost produkce maximální odpovědi

**Antagonista** – váže se na receptor, nevyvolává odpověď, zeslabuje účinek agonisty

**Pozor !!!** Funkční antagonismus (např. insulin, glukagon)



*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

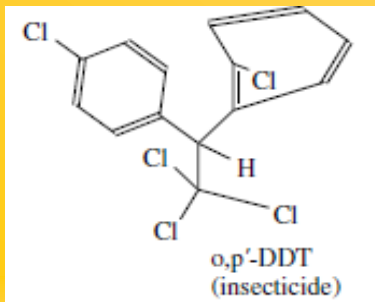
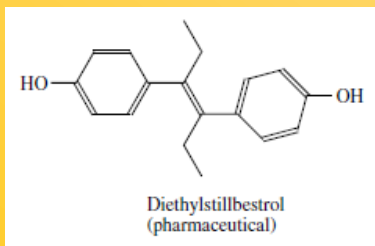
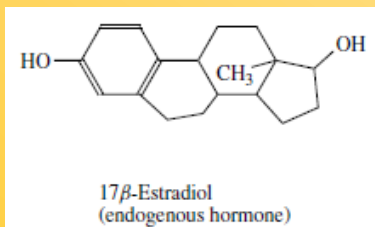
# Endokrinní disrupce

## Agonisté hormonálních receptorů

- xenobiotika – stimulace fyziologických procesů v nepřítomnosti endogenního ligandu (např. gynekomastie)

**Estrogenní receptor** - většina xenobiotik má nízkou estrogenní aktivitu - muži, nevyzrálí jedinci, embrya = citliví

- gynekomastie – častý vedlejší efekt estrogenních léčiv → feminizace



| Chemical                                | Potency |
|-----------------------------------------|---------|
| 17β-Estradiol                           | 100     |
| Diethylstilbestrol                      | 74      |
| 4-Nonylphenol                           | 0.005   |
| 4-Octylphenol                           | 0.003   |
| 4-tert-Octylphenol                      | 0.00036 |
| o', p'-DDT                              | 0.00011 |
| o', p'-DDE                              | 0.00004 |
| 2', 5'-Dichloro-4-biphenylol            | 0.62    |
| 2', 4', 6-Trichloro-4-biphenylol        | 1.0     |
| 2', 3', 4', 5'-Tetrachloro-4-biphenylol | 0.82    |
| Bisphenol A                             | 0.005   |
| Butylbenzylphthalate                    | 0.0004  |

# Endokrinní disrupce II.

## Antagonisté hormonálních receptorů

### Estrogenní receptor

- tamoxifen – antagonist v reprodukční tkáni, agonista v prevenci ztráty hustoty kostních minerálů a redukci sérového cholesterolu či v profylaxi na estrogenech-responsivních rakovinách prsou

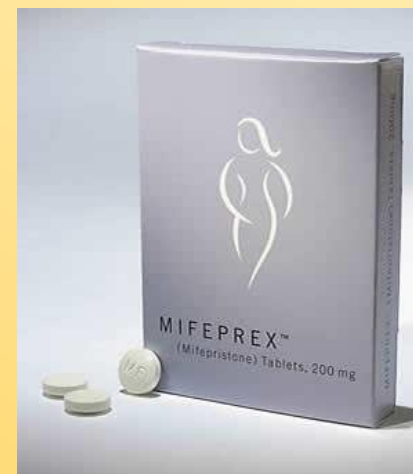
- fulvestrant, raloxifen, flavonoidy, PCBs

→ **Defeminizace** (narušení menstruace, plodnosti, embryoletalita)

### Androgenní receptor – cimetidin, cyperoteron acetát, hydroxyflutamid

- DDT metabolis p,p'-DDE, hydroxylované PCB

→ **demaskulinizace**



### Glukokortikoidní receptor - mifepriston (RU486)

- negativní ovlivnění růstu, vývoje

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

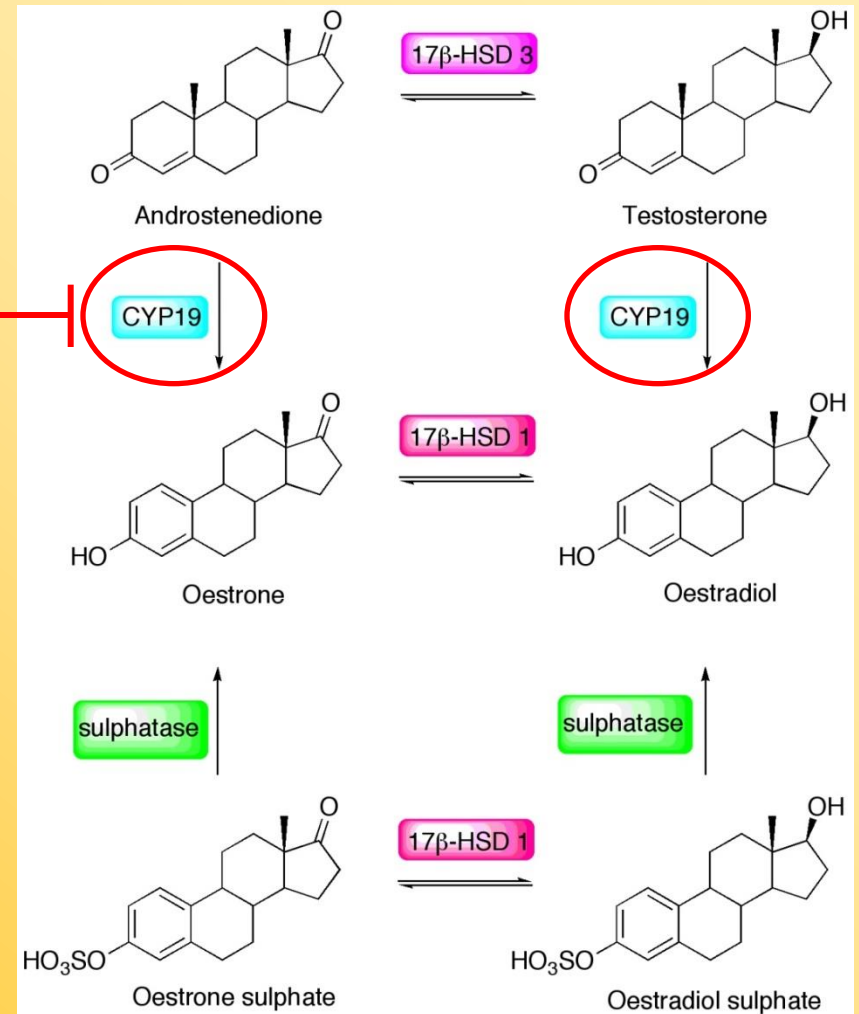
INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

# Endokrinní disrupce III.

## Inhibitory syntézy hormonů

- **Inhibice CYP19 (aromatasa)**
  - fadrozol, anastrozol, letrozol – snížení hladiny E2 → **defeminizace**

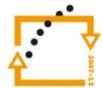


= využití jako Als pro účely IVF

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

# Endokrinní disrupce IV.

## Induktory hormonální clearance

- inaktivace glukuronidací, sulfatací = fáze II
- indukce PXR, CAR (fenobarbital) a AhR ligandy (dioxin)



**Zvýšená clearance a nižší obsah cirkulujících hormonů (např. hypothyreodismus – u narozených – kretenismus; u dospělých – snížená funkce srdce, plic, střeva, ledvin)**

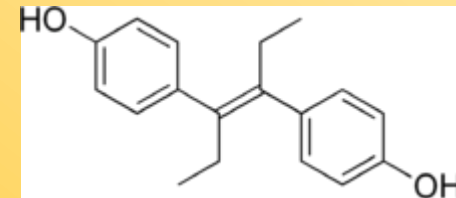
## Vytěsnění hormonů z vazby na proteiny

- přenos krví ve vazbě na SHBG (sex hormone binding globulin), CBG (kortikosteroid binding globulin), TBG (thyroxin binding globulin), albumin
- kompetice o vazbu s xenobiotiky (fenolické látky, nitrofenoly – u tyroxinu; bisfenol A, pyretroidní insekticidy – u testosteronu a 17beta-estradiolu)

# Endokrinní disrupce V.

## DES (diethylstilbestrol)

- 40.- 60. léta 20.st. – předepisováno jako prevence potratu v USA
  - dcery matek na DES – vyšší výskyt adenokarcinomu vagíny a děložního hrdla, strukturní abnormality reprodukčního ústrojí, neplodnost, potraty
  - synové matek na DES – *u zvířat* - zvýšený výskyt prostatické metaplazie
    - z epidemiologických dat – testikulární abnormality, hyperplazie prostaty, nesestouplá varlata
- Účinky v důsledku nadměrné estrogení aktivity DES



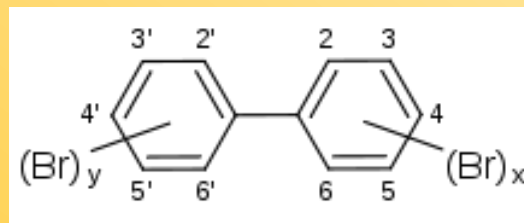
# Endokrinní disrupce VI.

## PBB (polybromované bifenyly)

-1973 - Michigan - retardéry hoření přidány do krmiva pro dobytek

- cca 4000 lidí vystaveno PBB z masa

➔ dcery matek, které jedly maso – korelace počátku menstruace s expozicí – nejvíce exponované dcery = nástup menstruace o 1 rok dříve



# Endokrinní disrupce VI.

**Estrogenní léčiva** – expozice dětem či dospělým → abnormality reversibilního charakteru

- gynekomastie – vývin prsou u mužů
- narušení poměru androgeny / estrogeny – např. použití lubrikačního krému obsahujícího estrogeny



- pseudopředčasná puberta – např. krémy na kůži proti dermatitidě – pubické ochlupení, změny v pohlavních orgánech, vývin prsou

**Environmentální estrogeny** – asociace předčasného vývinu prsou u žen (< 8 let) v závislosti na expozici esterům ftalátu – Puerto Rico

- Kepone (chlordecon) – insekticid s estrogenní aktivitou – expozice u žen = třes, ztráta hmotnosti, nervozita; u mužů – testikulární dysfunkce

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

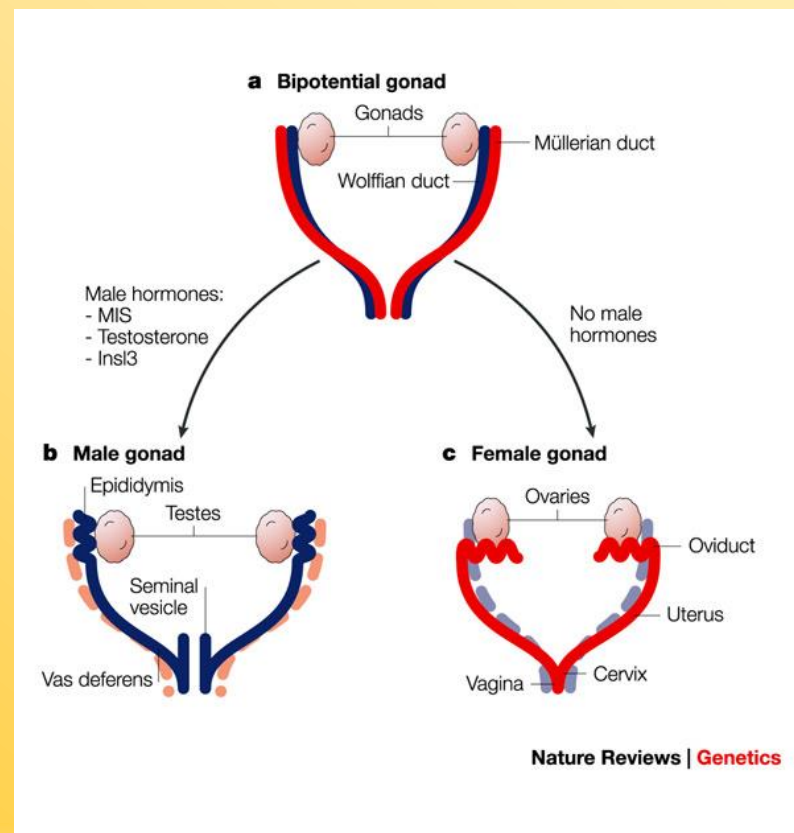
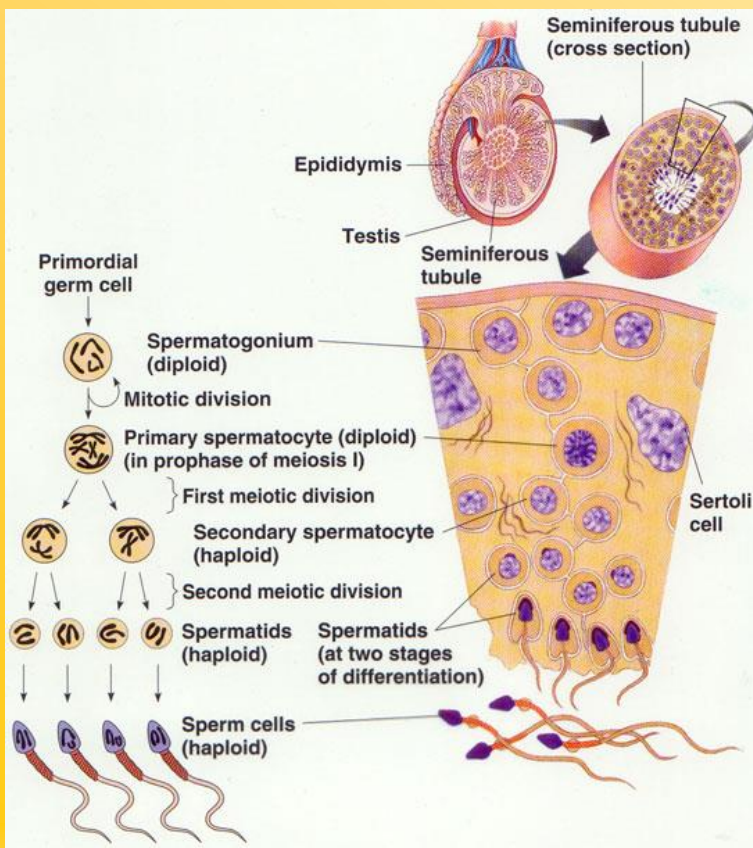
*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

## Investice do rozvoje vzdělávání

- Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.***

# Mužská reprodukční fyziologie

- Semenotvorné tubuly – spermatogenese
- Intersticiální kompartment - Leidigovy buňky – produkce testosteronu
- sekrece androgenů je důležitá u vyvíjejícího se plodu → regrese Müllerových kanálků a vývoj Wolfových kanálků



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

# Cíle toxikant na mužský reprodukční systém

- **Obecné mechanismy**
  - agonisté / antagonisté
  - inhibice enzymů syntézy steroidů
- **Vliv na zárodečné buňky** – spontánní potrat u žen mužů exponovaných **vinyl chloridu**
  - ethylnitrosomočovina – reversibilní sterilita u myši
  - **aktinomycin D** – interkalace do DNA a narušení struktury a funkce spermatozoí
- **Vliv na spermatogenesi** – antibiotika, antimetabolity v léčbě rakoviny (**vinblastin**)
  - ionizující záření, delší zahřívání šourku
- **Vliv na sexuální chování** – anabolické steroidy, antidepresiva ovlivňují libido, ejakulaci
- **Vlivy na estrogenní funkci** – **cimetidin** – kompetice o vazbu na AR s testosteronem; DES antagonizuje aktivitu fetálního testosteronu



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



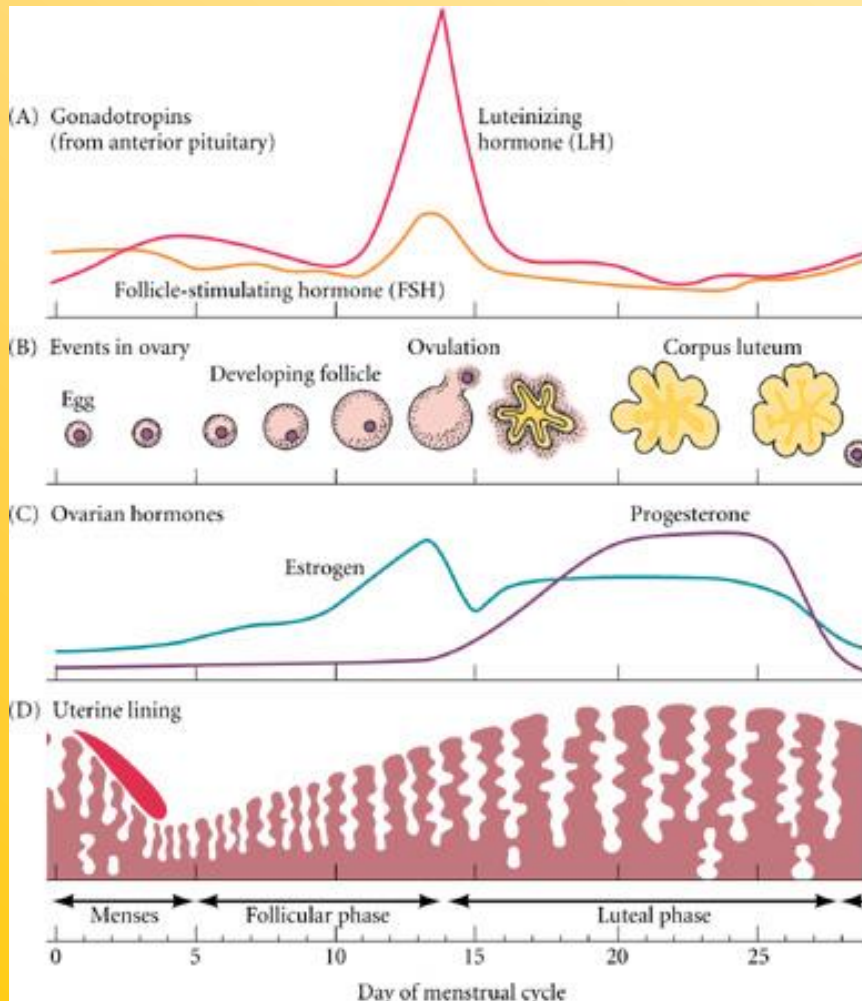
OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

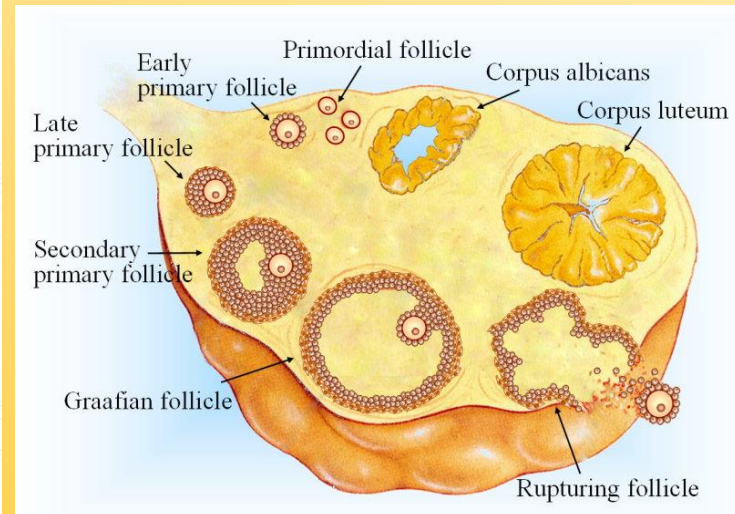
Investice do rozvoje vzdělávání

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Ženská reprodukční fyziologie



- LH, FSH – stimulace uvolnění estrogenu a progesteronu z ovarií
- Estrogen sekretován z rostoucího folikulu



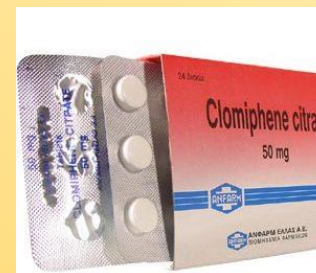
# Cíle a mechanismy toxikant na ženský reprodukční systém

Endokrinní disruptory – **DES** – *in utero* expozice → vaginální karcinomy

- **kepon, methoxyclo**r – maskulinizace samic potkanů
- PCBs, DDT – induktory karcinogeneze prsou

Účinek na vaječníky a dělohu – **cyklofosamid, vinkristin** – předčasná menopauza

- tamoxifen, clomipfen – antiestrogeny



Vlivy na sexuální chování – methadone, cannabis, alkohol – pokles ženského libida

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

# Kožní toxicita

3 vrstvy –

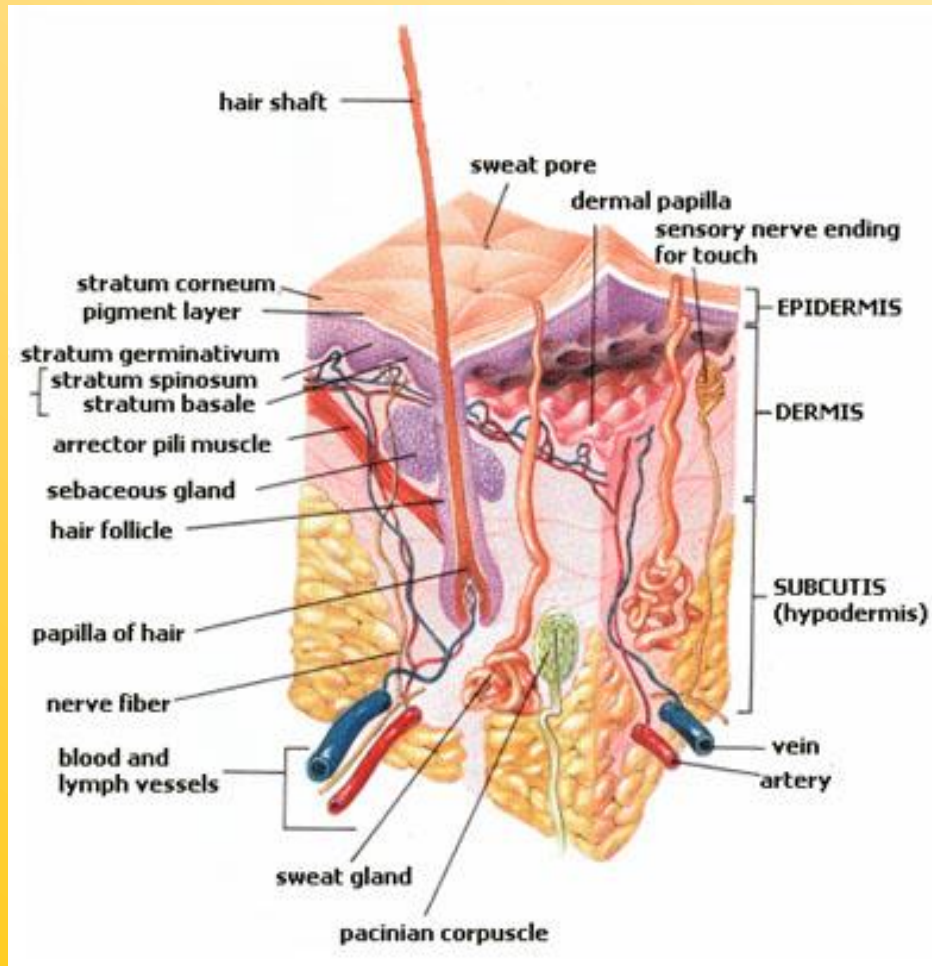
Dermis – podporující funkce – kolagen, elastin-sekrece fibroblasty

Kapiláry zásobují vlasové folikuly a sekreční buňky potních žláz

Vnější Epidermis tvořena keratinocyty – spojeny desmosomy

Melanocyty

Langerhansovy buňky



Investice do rozvoje vzdělávání



INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Kožní toxicita II.

**Kontaktní dermatitida – 90% případů nemocí z povolání v USA (Americká Akademie Dermatologie)**

- zahrnuje 2 rozdílné zánětlivé procesy – iritační dermatitida a alergická dermatitida – nerozlišitelné projevy = erytém, ztvrdnutí, odlupování, tvorba puchýrků – přítomné na místě expozice

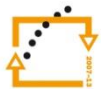
- infiltrace lymfocytů a eosinofilů



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

# Iritiční dermatitida

- Neimunitní odpověď daná přímým účinkem látky na kůži
  - proměnné jako koncentrace, pH, teplota, opakovaný kontakt mají vliv na vyrážku
  - silné kyseliny, louhy, rozpouštědla
  - nedochází k vzniku iritace běžnými zánětlivými cestami

| Agent            | Examples                                          |
|------------------|---------------------------------------------------|
| Water            | —                                                 |
| Cleansers        | Soaps and detergents                              |
| Bases            | Epoxy resin hardeners, lime, cement, and ammonium |
| Acids            | Hydrochloric acid and citric acid                 |
| Organic solvents | Many petroleum-based products                     |
| Oxidants         | Peroxides, benzoyl peroxide, and cyclohexanone    |
| Reducing agents  | Thioglycolates                                    |
| Plants           | Orange peel, asparagus, and cucumbers             |

# Alergická dermatitida

- Představuje opožděnou hypersenzitivitu (typ IV)
  - minimální množství vyvolá zřejmou reakci (rozdílné od kontaktní dermatitidy)
  - prvotní vystavení alergenu
  - genetická komponenta – HLA alely k alergiím na Ni, Cr, Co
  - opakovaná expozice
  - nízkomolekulární látky (hapteny) <1000 Da – některé podstupují kožní biotransformaci – vazba na epidermální proteiny – některé proteiny na povrchu Langerhansových buněk

| Source                                   | Allergen(s)                                                                            | Examples                                  |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Plants and trees                         | Rhus                                                                                   | Poison oak and ivy                        |
| Metals                                   | Nickel and chromium                                                                    | Earrings, coins, and watches              |
| Glues and bonding agents                 | Bisphenol A, formaldehyde, acrylic monomers                                            | Glues, building materials, and paints     |
| Hygiene products and topical medications | Bacitracin, neomycin, benzalkonium chloride, lanolin, benzocaine, and propylene glycol | Creams, shampoos, and topical medications |
| Antiseptics                              | Chloramine, glutaraldehyde, thimerosal, and mercurials                                 | Betadine                                  |
| Leather                                  | Formaldehyde and glutaraldehyde                                                        |                                           |
| Rubber products                          | Hydroquinone, diphenylguanidine, and <i>p</i> -phenylenediamine                        | Rubber gloves and boots                   |

# Testy na Alergickou kontaktní dermatitidu

| Panel 1 |                                    |                                | Panel 2 |                                                  |                                |
|---------|------------------------------------|--------------------------------|---------|--------------------------------------------------|--------------------------------|
| Patch   | Allergen                           | Micrograms/<br>cm <sup>2</sup> | Patch   | Allergen                                         | Micrograms/<br>cm <sup>2</sup> |
| 1.      | Nickel sulphate                    | 200                            | 13.     | p-tert-Butylphenol<br>formaldehyde resin         | 50                             |
| 2.      | Wool alcohols                      | 1000                           | 14.     | Paraben mix                                      | 1000                           |
| 3.      | Neomycin sulphate                  | 230                            | 15.     | Carba mix                                        | 250                            |
| 4.      | Potassium dichromate               | 23                             | 16.     | Black rubber mix                                 | 75                             |
| 5.      | Caine mix                          | 630                            | 17.     | Cl+Me-Isothiazolinone<br>(Kathon CG)             | 4                              |
| 6.      | Fragrance mix                      | 430                            | 18.     | Quaternium-15                                    | 100                            |
| 7.      | Colophony                          | 850                            | 19.     | Mercaptobenzo-<br>thiazole                       | 75                             |
| 8.      | Epoxy resin                        | 50                             | 20.     | p-Phenylenediamine                               | 90                             |
| 9.      | Quinoline mix                      | 190                            | 21.     | Formaldehyde<br>(N-hydroxymethyl<br>succinimide) | 180                            |
| 10.     | Balsam of Peru                     | 800                            | 22.     | Mercapto mix                                     | 75                             |
| 11.     | Ethylenediamine<br>dihydrochloride | 50                             | 23.     | Thiomersal                                       | 8                              |
| 12.     | Cobalt chloride                    | 20                             | 24.     | Thiuram mix                                      | 25                             |



**Patch test** – na umytá záda pacienta jsou přilepeny náplasti s potenciálním alergenem; 2-3 dny – odstranění náplastí a posouzení stupně dermatitidy

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

# Fototoxicitá a senzitivita

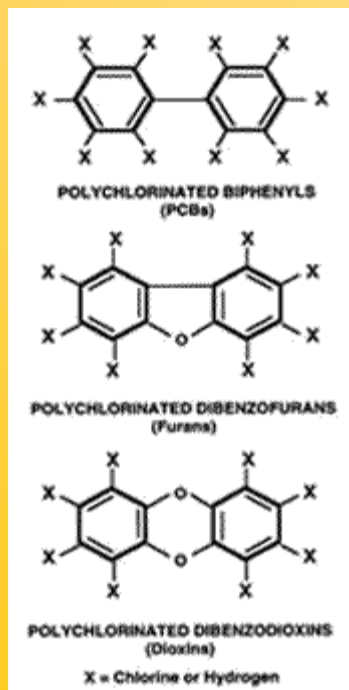
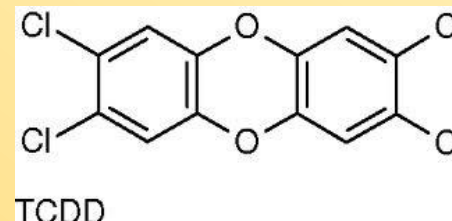
- Elektromagnetické záření (< 290nm = UV, X-rays)
- Absorpce – závisí na chromoforech, tloušťce epidermis, obsahu vody
  - chromofory – melanin (290-320 nm), AK (Trp)
  - expozice UV vede k erythémům (spálení) a zhnědnutí – produkce melaninu melanocyty
- ne vždy toxická – UV záření je kritické pro konverzi 7-dehydrocholesterolu na previtamin D3
  - modré světlo rozkládá bilirubin

Porfyrie – akumulace prekurzorů hemu  
– fluorescence při expozici na 400-410nm → **produkce ROS**



# Chloracne

- **Vzácná choroba – nemoc z povolání**
  - cysty kolem očí, za ušima, hnědá diskolorace nehtů
  - progresivní degenerace mazových žláz, přechod mazových buněk na keratinizované
  - expozice ligandům AhR



# Kožní toxicita

## Urticaria – okamžitá

hypersenzitivní reakce typ I  
způsobená histaminem a  
vasoaktivními peptidy  
uvolňovanými z žírných  
buněk

- aspirin, azo barviva, benzoáty



## Poruchy pigmentace –

melanin je produkován seríí  
reakcí s počátkem v tyrosinu

-hyperpigmentace – kovy (Hg,  
Pb, As), uhelný dehet, léčiva

-hypopigmentace – fenoly,  
katecholy



# Slovo závěrem...



## Hormonálně nenarušený pohled na svět.....



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE  
DO ROZVOJE  
VZDĚLÁVÁNÍ

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*