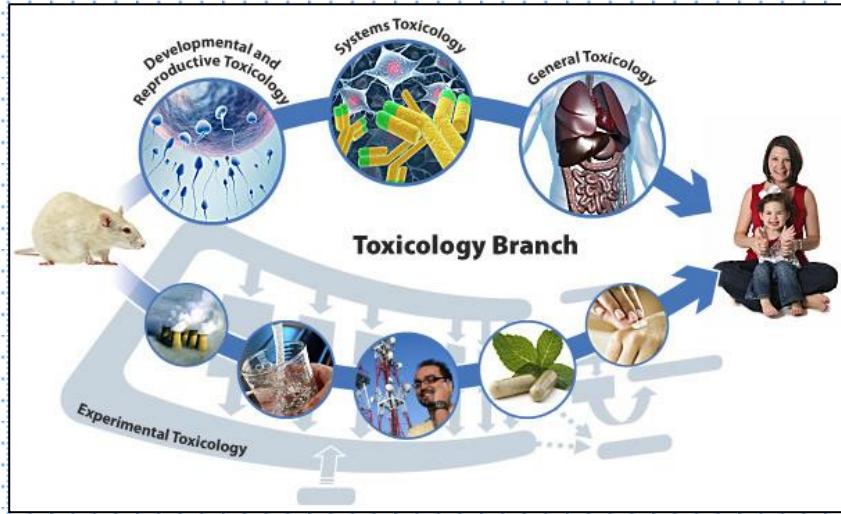
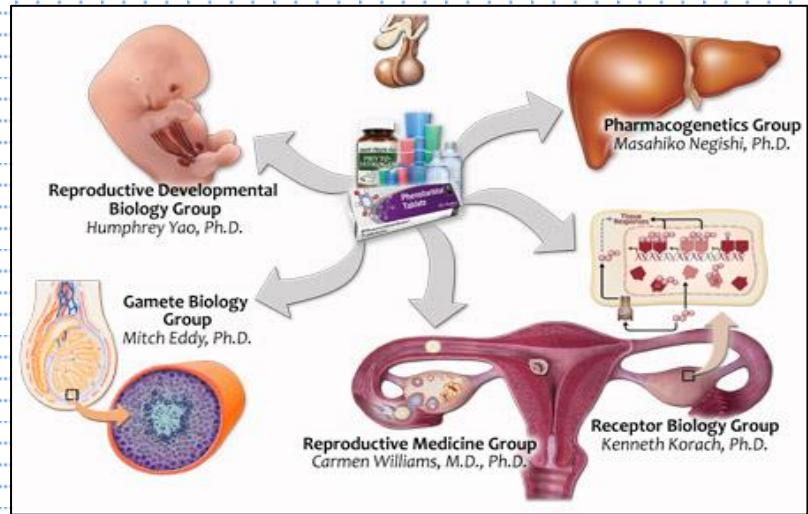


ZTOX / základy Toxikologie

Radim Vrza



I. Autobrewery syndrome (Gut fermentation syndrome, Endogenous ethanol fermentation)

Bylo nebylo ...

23.9.2013

Muž měl unikátní chorobu, jeho tělo si samo vyrábělo alkohol

(<http://www.novinky.cz/koktejl/314081-muz-mel-unikatni-chorobu-jeho-telo-si-samo-vyrabelo-alkohol.html>)



Popsáno pro: *Candida albicans, Candida glabrata, Saccharomyces cerevisiae*

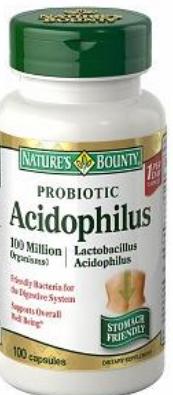
- Opilost bez konzumace alkoholu
- Kdykoliv v průběhu dne



I. Autobrewery syndrome (Gut fermentation syndrome, Endogenous ethanol fermentation)

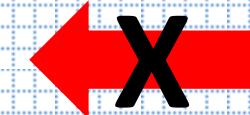
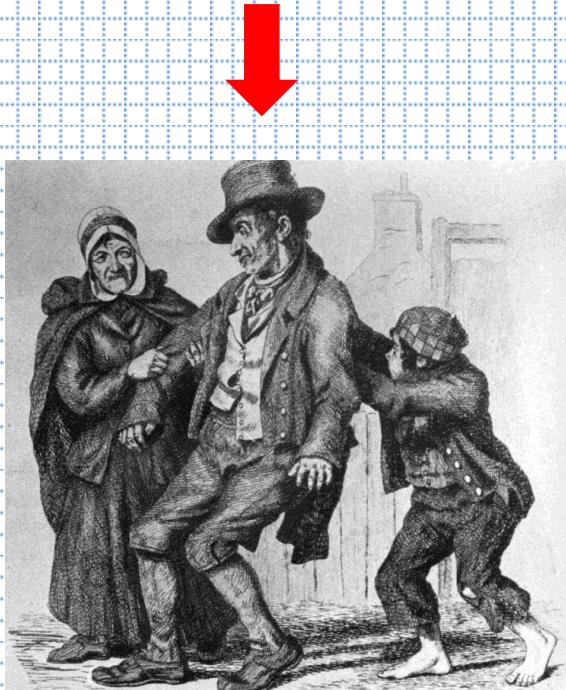
2013, International Journal of Clinical Medicine

- 61 letý američan, po operaci zlomeného chodidla – intoxikován jen po 2 pivech a někdy i bez známek požití alkoholu
- Monitoring hladiny manželkou - 0,33-0,8%, limit v USA 0,08%



- Přítomnost kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* → konzumace sacharidů → produkce alkoholu
- *Důsledek dřívější léčby antibiotiky !!!*
- *Léčba: antimykotika (fluconazole), nízko-sacharidová dieta, tablety s bakterií Acidophilus*

I. Autobrewery syndrome (Gut fermentation syndrome, Endogenous ethanol fermentation)



! ! ! Sociální důsledky = ztráta zaměstnání, problémy
ve vztahu, zatčení ...

I. Nízkokalorická dieta

Stravovací návyky



Proteiny - nízkoproteinová dieta – snížení monooxygenasové aktivity u krys

- výhoda – např. dimethylnitrosamine - netoxický
- nevýhoda – např. strychnin – více toxický

Sacharidy – vysokosacharidová dieta = podobné účinky jako nízkoproteinová u krys

No jo, ale ...



...ale není tohle jen zúžený úhel pohledu ?

I. Nízkokalorická dieta



Dr. Otto Heinrich Warburg

1931 Nobel Prize Winner

The Root Cause of Cancer



Dr. Otto Warburg discovered the root cause of cancer in 1923 and he received the Nobel Prize for doing so in 1931. Dr. Warburg was director of the Kaiser Wilhelm Institute (now Max Planck Institute) for cell physiology at Berlin. He investigated the metabolism of tumors and the respiration of cells, particularly cancer cells. Below are some direct quotes by Dr. Warburg during medical lectures where he was the keynote speaker:

"Cancerous tissues are acidic, whereas healthy tissues are alkaline. Water splits into H⁺ and OH⁻ ions, if there is an excess of H⁺, it is acidic; if there is an excess of OH⁻ ions, then it is alkaline."

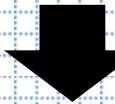
In his work *The Metabolism of Tumours* he demonstrated that all forms of cancer are characterized by two basic conditions: acidosis and hypoxia (lack of oxygen). Lack of oxygen and acidosis are two sides of the same coin: where you have one, you have the other.

"All normal cells have an absolute requirement for oxygen, but cancer cells can live without oxygen - a rule without exception." – Dr. Otto Warburg

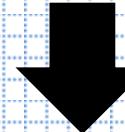
"Deprive a cell 35% of its oxygen for 48 hours and it may become cancerous." – Dr. Otto Warburg.

Dr. Warburg has made it clear that the prime cause of cancer is oxygen deficiency (brought about by Toxemia). Dr Warburg discovered that cancer cells are anaerobic (do not breathe oxygen) and cannot survive in the presence of high levels of oxygen.

Nádorové buňky jsou závislé na glykolýze
více než na OXPHOS !!!



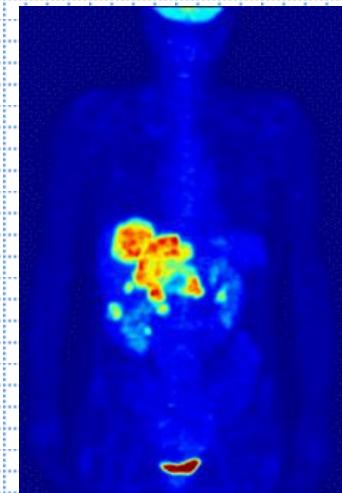
Zvýšená potřeba glukosy
(fluorodeoxyglukosa v PET)



Vznik laktátu



pokles extracellulárního
pH (7.4 → 6) uvnitř
málo prokrvovaného
nádoru



Vysoká hladina glukosy = dostatek ATP (hypoxie)

Obézní lidé = vyšší riziko rakoviny

I. Nízkokalorická dieta

Může nízkosacharidová, vysokoproteinová dieta snížit hladinu glukosy u myší aby došlo k zpomalení růstu tumorů ???

Victor W. Ho, et al.: A Low Carbohydrate, High Protein Diet Slows Tumor Growth and Prevents Cancer Initiation, 2011

- Sacharidy nahrazeny proteiny, tuky podporují růst tumorů !!!

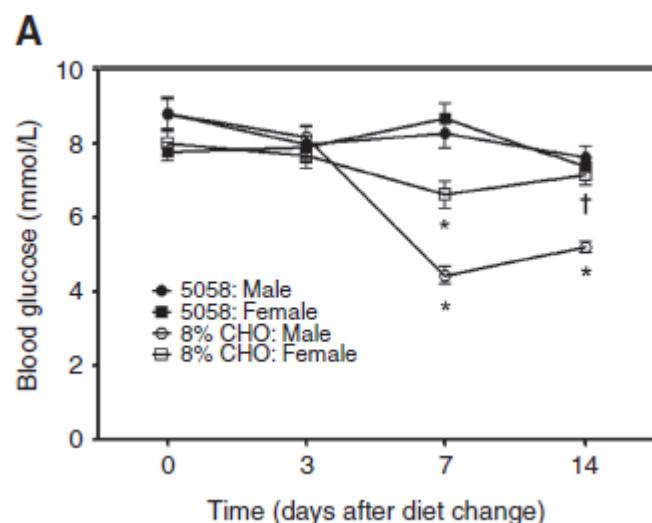
- 1) 8% sacharidů (% celkových konzumovaných kalorií) – Atkinsova dieta, 23% tuků (western diet)
- 2)

Table 1. Macronutrient breakdown of diets used

Western diet		TestDiet 5058	8% CHO	15% CHO ^a	10% CHO ^a
CHO	55.2	8.0	15.6	10.6	
Protein	23.2	69.4	58.2	63.5	
Fat	21.6	22.6	26.2	25.9	

NOTE: Values are given in % kcal.

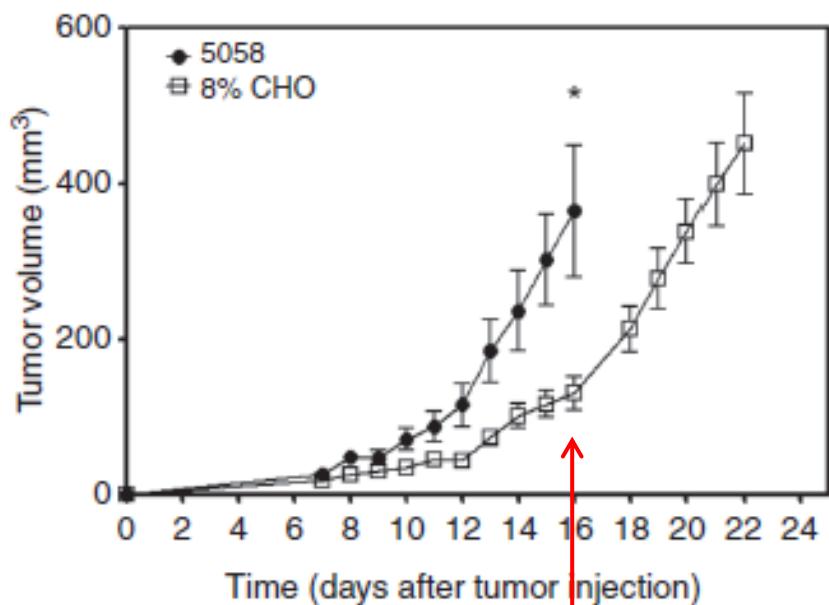
^aCHO content is 70% high amylose cornstarch.



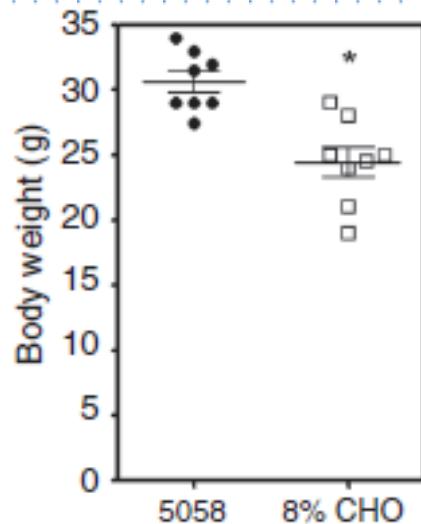
!!! Pokles glukosy !!!
Výraznější u samců !!!

I. Nízkokalorická dieta

Samci myší – 1 týden western diet (5058) nebo 8% CHO – následně injekce SCCVII
(agresivní lidský karcinom)



→ Poloviční objem tumoru za 16 dní, ale pokles hmotnosti !!

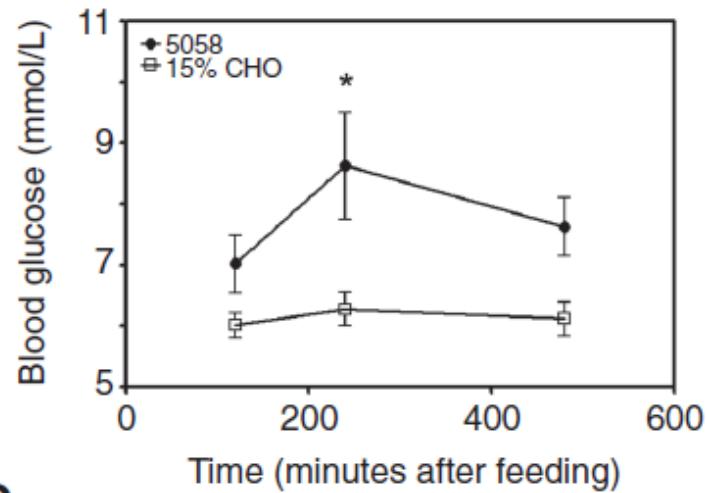


Vliv kalorické restrikce než nízkosacharidové diety !!!

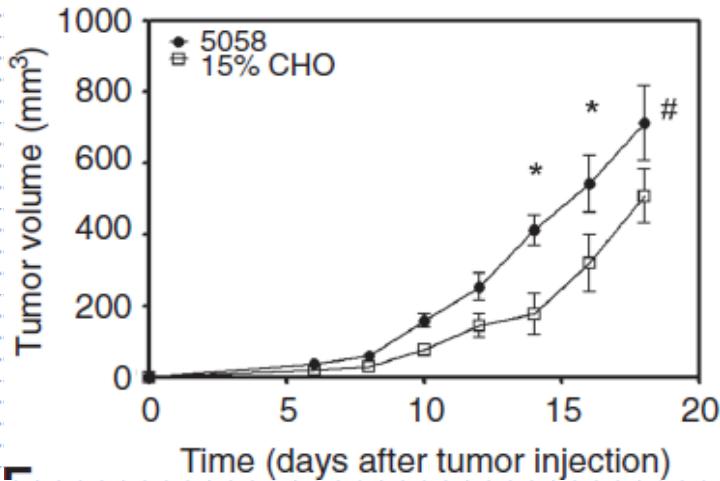
← Pravděpodobný důvod – tablety s 8% CHO hůř žvýkatelné !!!

II. Nízkokalorická dieta

Nová dieta: 15,6% amylosa (kukuřičný škrob), 58% proteiny, 26% tuk:



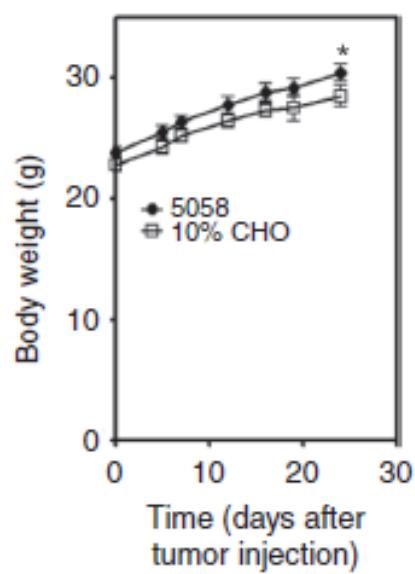
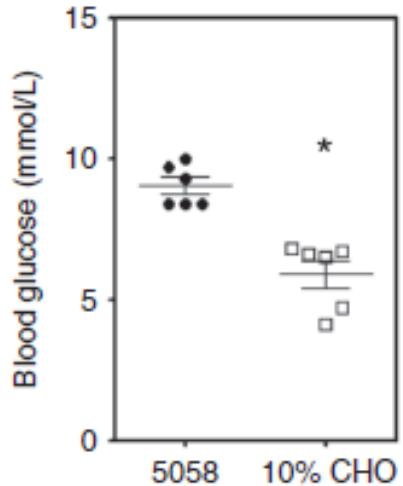
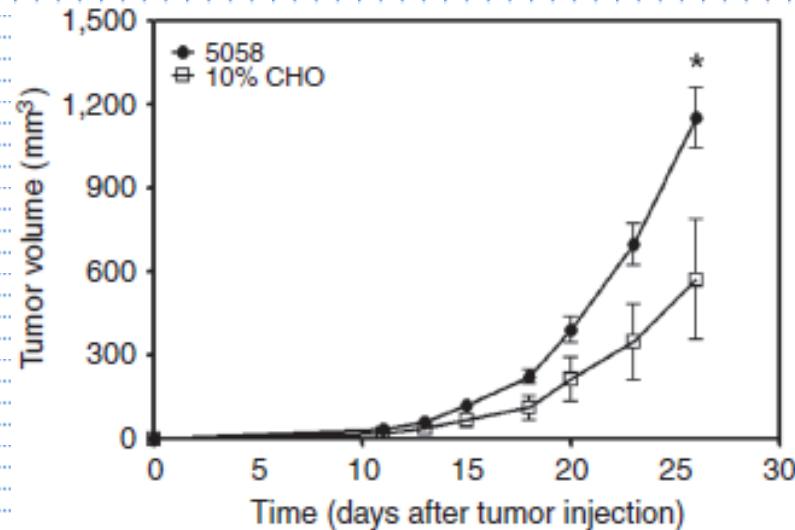
→ Nezvyšuje Krevní cukr !!!



→ Pomalejší rychlosť tumoru
(beze změny v hmotnosti) !!!

II. Nízkokalorická dieta

Nová dieta: 10% amylosa (kukuřičný škrob), 64% proteiny, 26% tuk:



Pomalejší růst tumorů !!

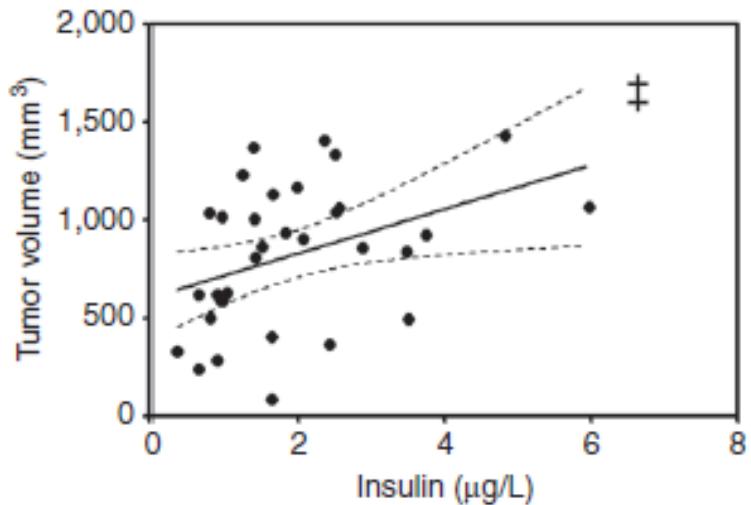
Nižší krevní cukr !!

ZISK hmotnosti i když
méně než u Western
style diet !!!

Všechny diety : snížené množství insulinu → méně
glukosy do buněk !!!!

II. Nízkokalorická dieta

Všechny diety : snížené množství insulinu → méně glukosy do buněk !!!



Korelace s velikostí tumorů !!!

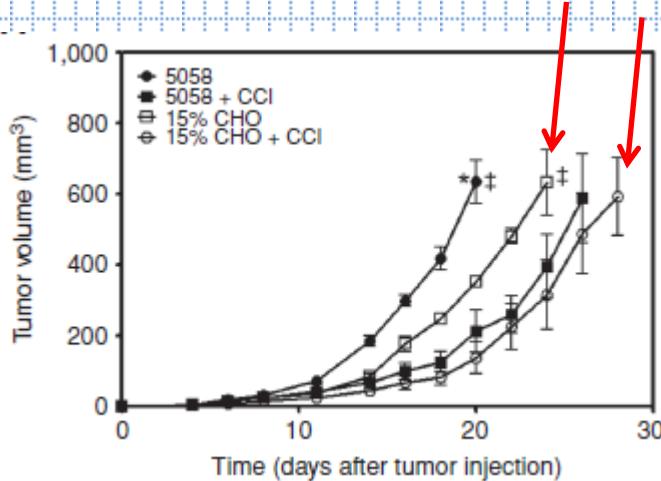
Každou válku je nutno vésti na více frontách !!!



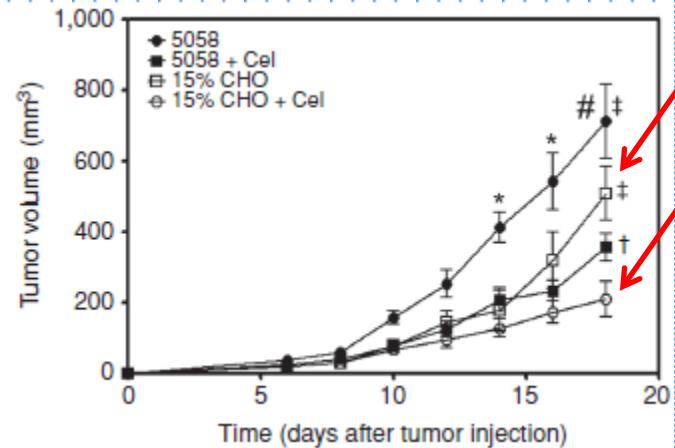
II. Nízkokalorická dieta

Může tato dieta být nápomocna
protinádorové léčbě ???

Nízkokalorická dieta vs mTOR
inhibice (CCI-779)



Nízkokalorická dieta vs COX-2
inhibice (Celebrex)



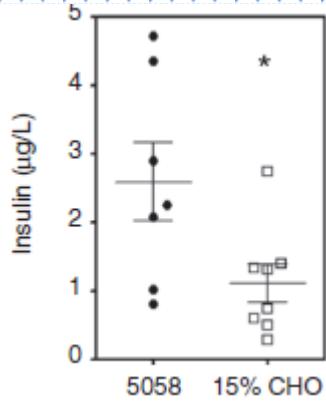
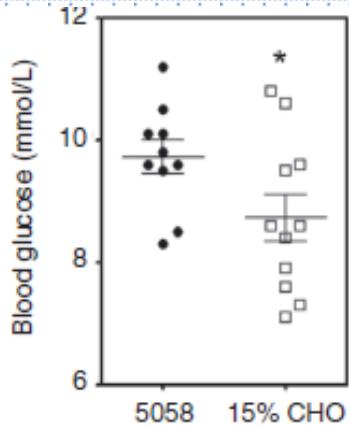
mTOR – kinasa regulující
proliferaci, motilitu,
dysregulace u několika rakovin

COX-2 (enzym) – indukce u zánětu,
upregulace u mnoha rakovin
- Celebrex = prevence rakovin
prostata, prsu, střeva,

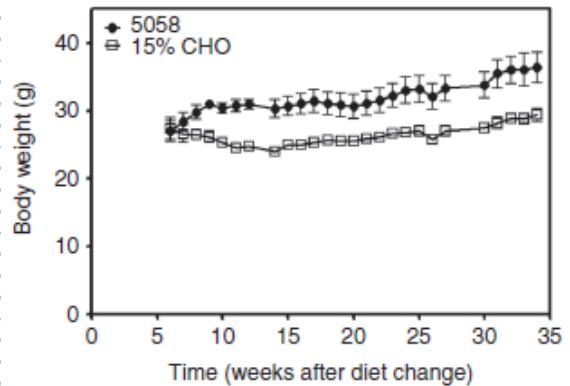
II. Nízkokalorická dieta

Může tato dieta snížit výskyt
nádorů ???

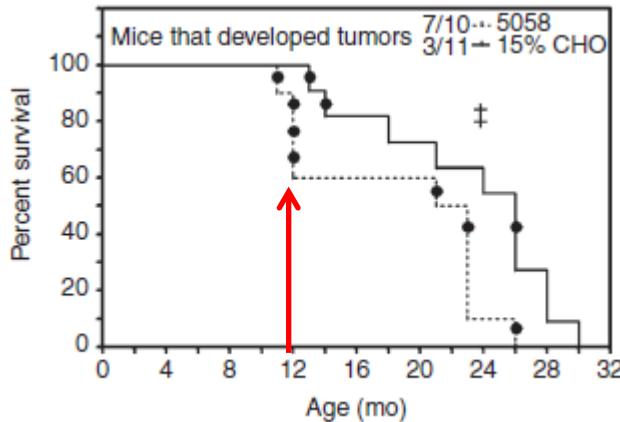
Model rakoviny prsu – samice NOP myší, DN p53 a HER2/Neu onkogen =
70-80% šance vzniku prsního tumoru



- Snížený insulin
- Snížená glukosa
- Nižší hmotnost



Za 1 rok života –
western style diet =
40% myší tumor !!!



- Prodloužená délka života
- Nižší incidence tumorů
- ➔ **Bezpečná a účinná dieta: 15%amylosa, 58%protein, 26% tuk**

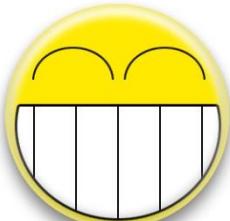
II. Nízkokalorická dieta

...no jo, ale já nejsem myška
slídilka !?!



- Pokles glukosy nemusí být tak výrazný jako u myší
- ...ale – studie asocující vyšší hladinu glukosy / insulinu s rakovinou pankreatu, prsou, tlustého střeva, endometria, jícnu = relevance !!!
- Benefity pro časná stádia rakoviny prostaty → snížení laktátu
- Poškození ledvin v důsledku vysokoproteinové diety - ??? Zřejmě jen u osob s chronickou nemocí ledvin (5 NOP samic větší ledviny, jen 1 zvýšený albumin)

Snížená obezita, glukosa, insulin, zvýšení protinádorové imunity a délky života !!!



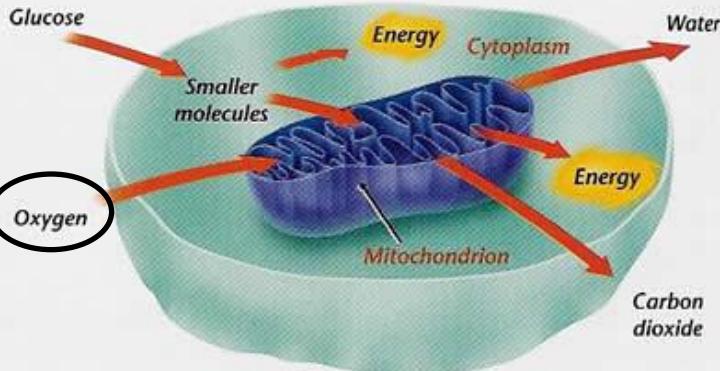
III. Kyslíková toxicita



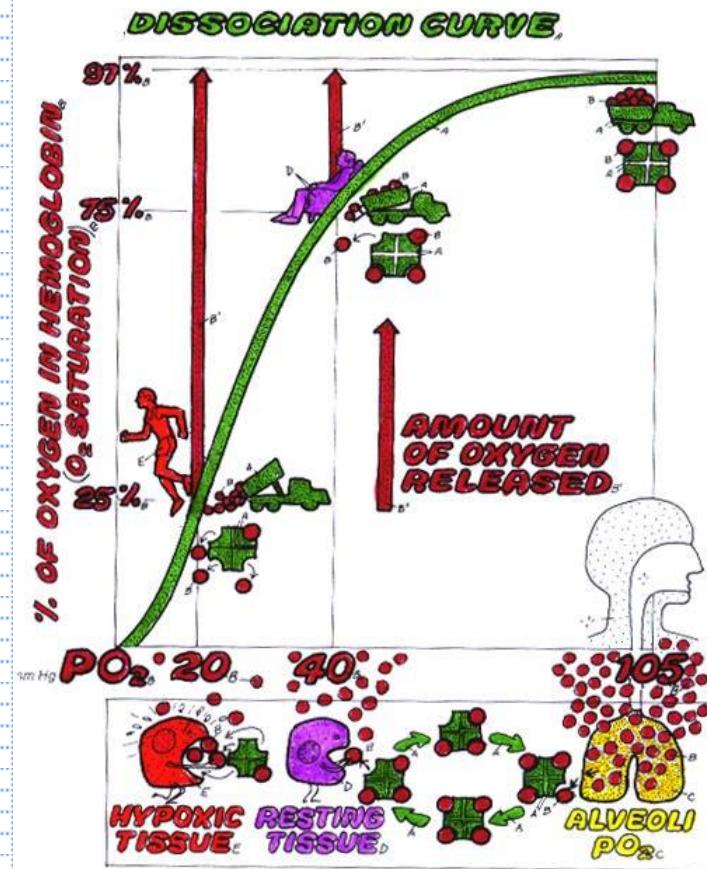
Kyslík – O₂

- bezbarvý plyn, bez chuti a zápachu
- 21% ve vzduchu
- redukce O₂ vede ke vzniku ROS (vedlejší produkt)

- kritický pro aerobní respiraci

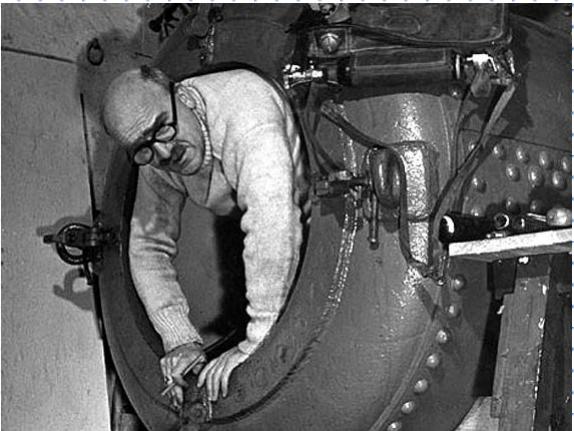


- u živočichů – vazba na hemoglobin – přenos do tkání

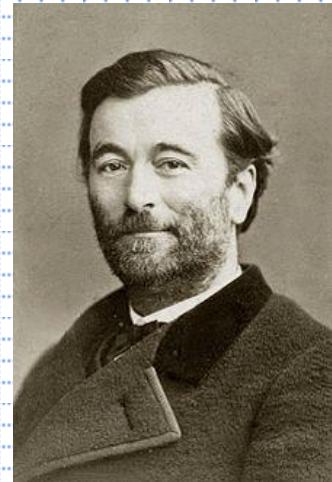


III. Kyslíková toxicita

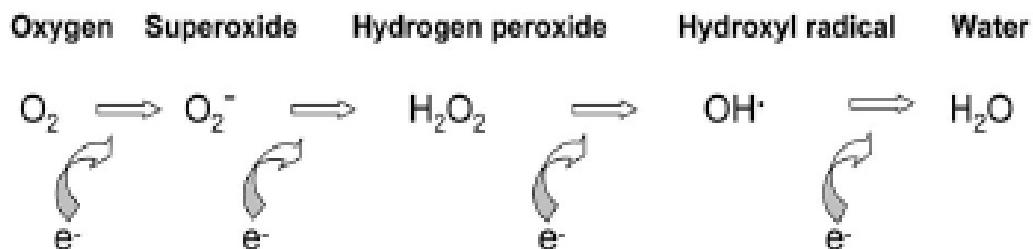
James Lorrain Smith (1862 – 1931) –
expozice 75% O₂ indukuje zánět plic
(Lorrain Smith effect)



Paul Bert (1833-1886)
- systematický popis
kyslíkové toxicity
(poprvé CNS = Paul Bert
effect)



Na začátku 50.let 20.století – O₂ je toxický
podobně jako radiace = **tvorba ROS**



ROS = „reactive oxygen species“ – často s
nepárovaným elektronem -
radikály

III. Kyslíková toxicita

- hlavní místo vzniku = mitochondrie
(skrz únik z elektronového řetězce)
- cca 1-2% O₂ konzumovaného buňkou unikne jako volné radikály.

Místo působení ROS:

- peroxidace membrán
- strukturálních proteinů
- enzymů
- DNA

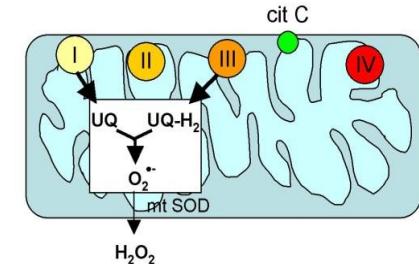
Ochrana:

- **Enzymatická** – superoxid dismutasa (SOD), katalasa, glutathionperoxidasa (GPX), glukosa-6-fosfát dehydrogenasa
- **Ne-enzymatická** – glutathion (GSH)

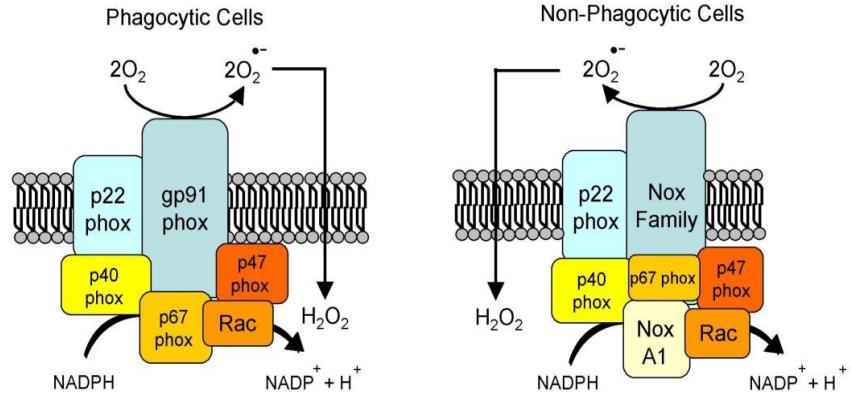
a) Mitochondria

Stimuli inducing increased mitochondrial generation of ROS:

- serum deprivation
- integrin signalling
- apoptosis
- TNF α
- hypoxia
- ceramide
- p53
- oncogenic Ras



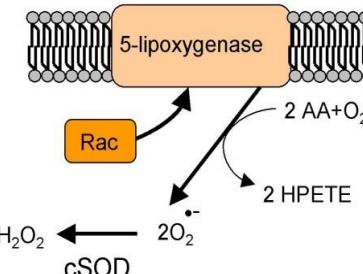
b) NADPH oxidase



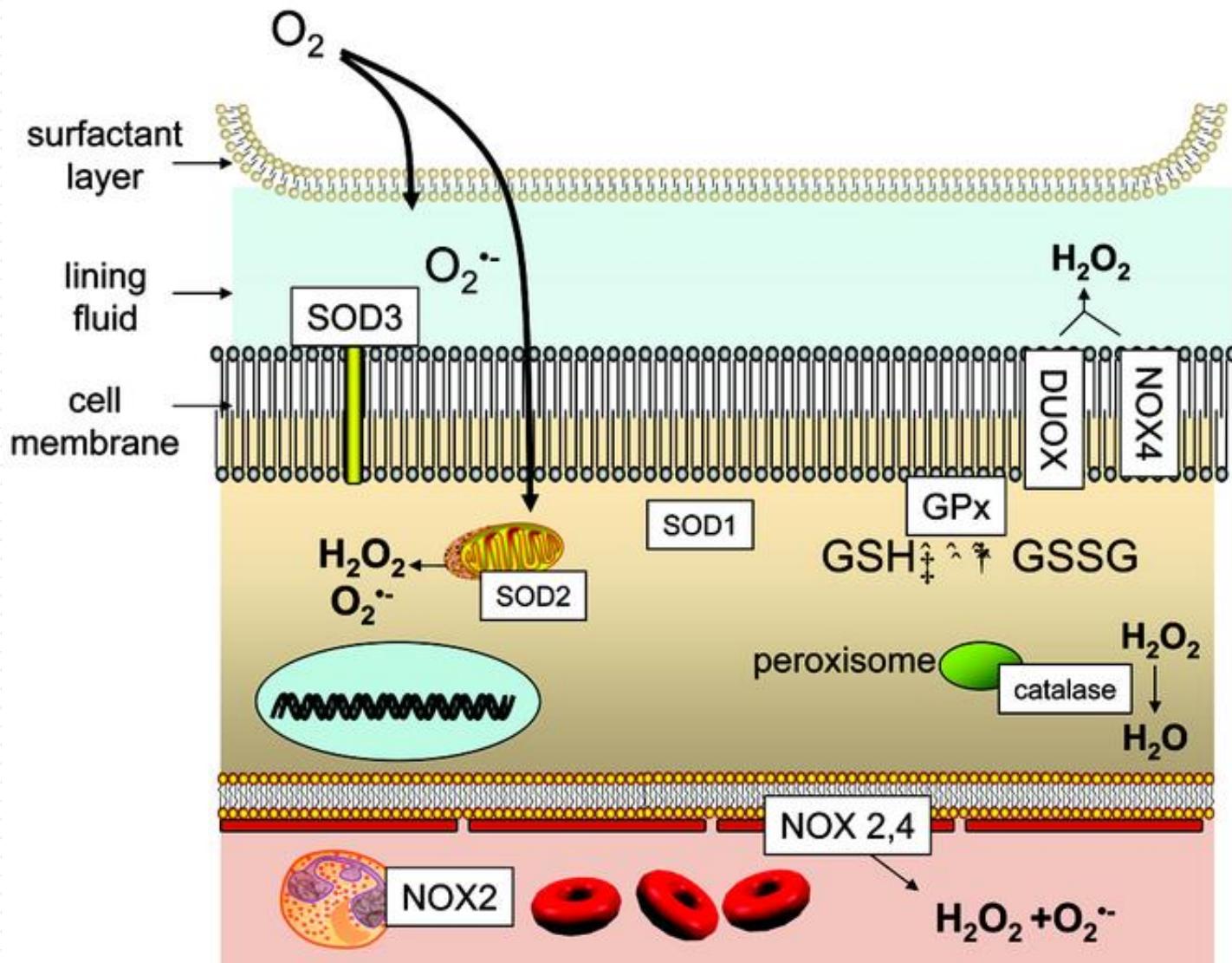
Stimuli for activation of NADPH oxidase and 5-lipoxygenase

- integrin signalling
- growth factors
- cytokines/hormones
- immunological stimuli
- hypoxia
- oncogenic Ras

c) 5-lipoxygenase



III. Kyslíková toxicita



III. Kyslíková toxicita

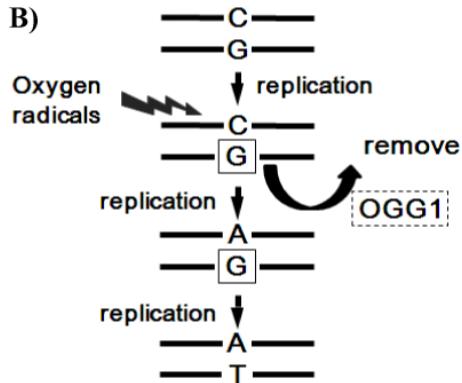
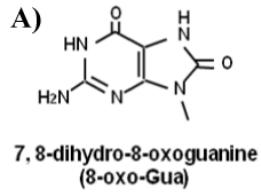
Oxidační stres – nerovnováha

Biomarkery

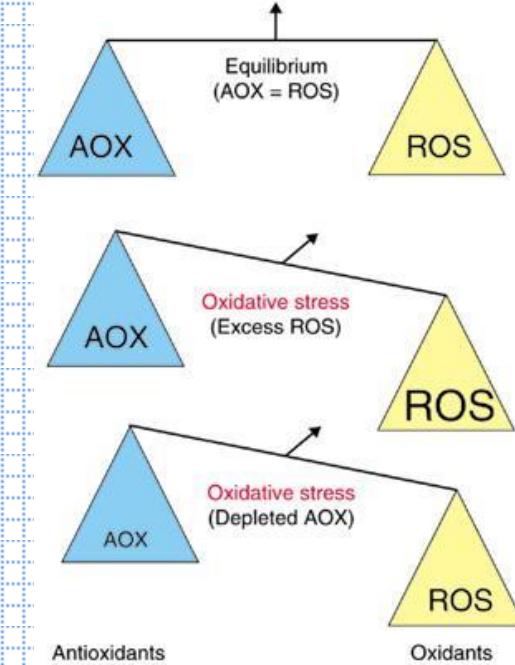
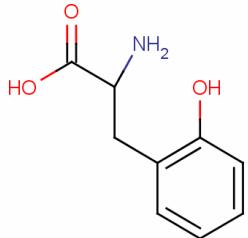
- lipidy – malondialdehyde



- nukleové kyseliny – 8-oxo-dihydroguanosine



- Aminokyseliny – o-tyrosine



Zvýšené aktivity - SOD, GPX

Zvýšený obsah - GSSG

Pozitiva - role v imunitní odpovědi

- aktivace růstových faktorů
- eliminace dysfunkčních proteinů

III. Kyslíková toxicita

Vývojové aspekty – optimální koncentrace O_2 pro vývoj u savců – 3-5%

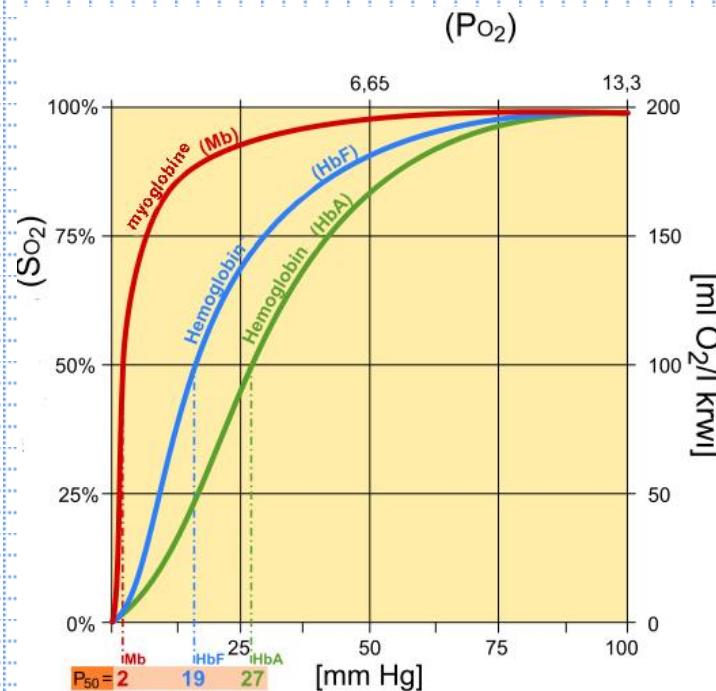
- po 10-12 týdnech lidského těhotenství – placentální lůžko je perfundováno mateřskou krví → organogenese za hypoxických podmínek !!!!

- mateřská krev:
 - artérie – $pO_2 = 12 \text{ kPa} (90 \text{ mm Hg}) (\sim 13\%)$
 - žíla – $pO_2 = 9,3 \text{ kPa} (\sim 10\%)$

- fetální arterie a žíly – $pO_2 = 4 \text{ kPa} (4\%)$
(30 mm Hg)

HbF – vyšší afinita k O_2 = zachovává skoro identický obsah O_2 jako u dospělého

Početí až narození = fyziologická hypoxie !!!

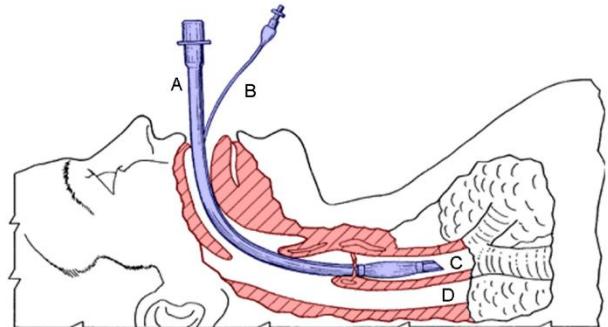
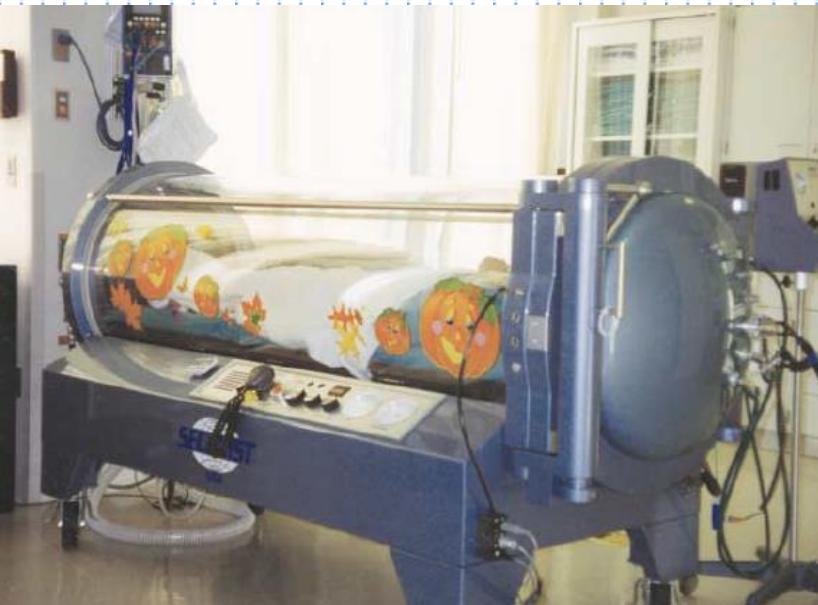


III. Kyslíková toxicita

- Tlak 1 bar (~1 atm) – rozpuštěno **0,3 ml O₂** v 1 dcl v krvi
- Tkáně extrahují v klidu 5-6 ml O₂ / dcl
- Expozice 100% O₂ – 1 bar = 5x
3 bar = 20x
- **Hyperbarický O₂** - nahrazuje inertní plyn kyslíkem, který je rychleji metabolizován tkáněmi
- **Lokální hypoxie** = predispozice zranění k infekci - snížené oxidativní vzplanutí
 - hyperbarický O₂ obnovuje a zvyšuje rychlosť fagocytosy
 - samotný O₂ – baktericidní pro *Clostridium perfringens*
 - bakterostatický pro *Escherichia* a *Pseudomonas*
- Adekvátní tlak kyslíku je nutný pro vznik **kolagenové matrix a angiogenesi !!!**
- Hyperbarický kyslík snižuje poločas karboxyhemoglobinu z 4-5h na 20min a méně (otrava CO)

III. Kyslíková toxicita

Administrace buď inhalací v komoře či endotracheální trubicí



- Délka **45 min (otrava CO)** až **5 h pro dekomprezní nemoc**

Benefity u některých poranění

- Popálení – zkrácení doby uzdravení
- Krvácení u pacientů kde nebyla dostupná vhodná krev
- Cukrovka

- max. 3 bar, délka max 120 min → hyperbarická léčba je bezpečná (reversibilní myopie)
- Cena: 90 min hyperbarické léčby v USA = 300 - 400 dolarů



A diabetic patient was referred for HBOT of his Wagner Grade III diabetic foot ulcer which was non-healing after one year, with amputation planned within 24 hours.

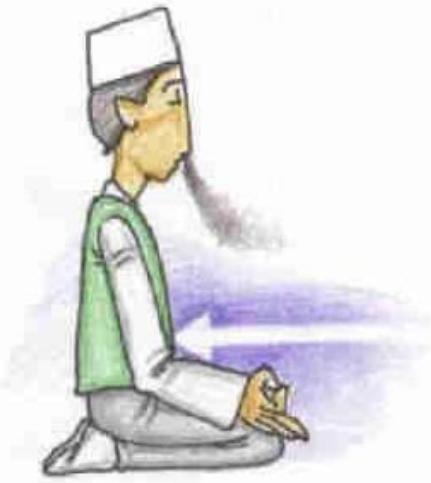


After three weeks (26 HBO sessions) his wound showed considerable healing.



After 50 completed HBO sessions healing is evident.

III. Kyslíková toxicita



- parciální tlak O_2 ROSTE
s rostoucím tlakem

$$P(O_2) = w \times P_{celk}$$

- složení vzduchu: 79%, 21% O_2 – parciální tlak O_2 při 100kPa (**1 bar**) = 21 kPa (**0,21 bar**)



Potápění – nárůst celkového tlaku = hydrostatický tlak

$$P_{celk} = h \times \rho \times g, h - hloubka$$

III. Kyslíková toxicita

Dýchání vzduchu = 1.6
bar v hloubce 66 m !!!

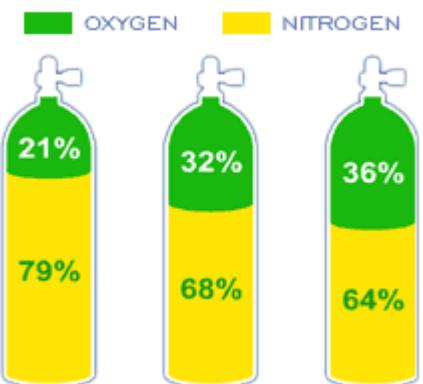
Obohacené směsi
(Nitrox) → dosažení
 $P(O_2)$ = 1.6 bar při
nižší hloubce !!!



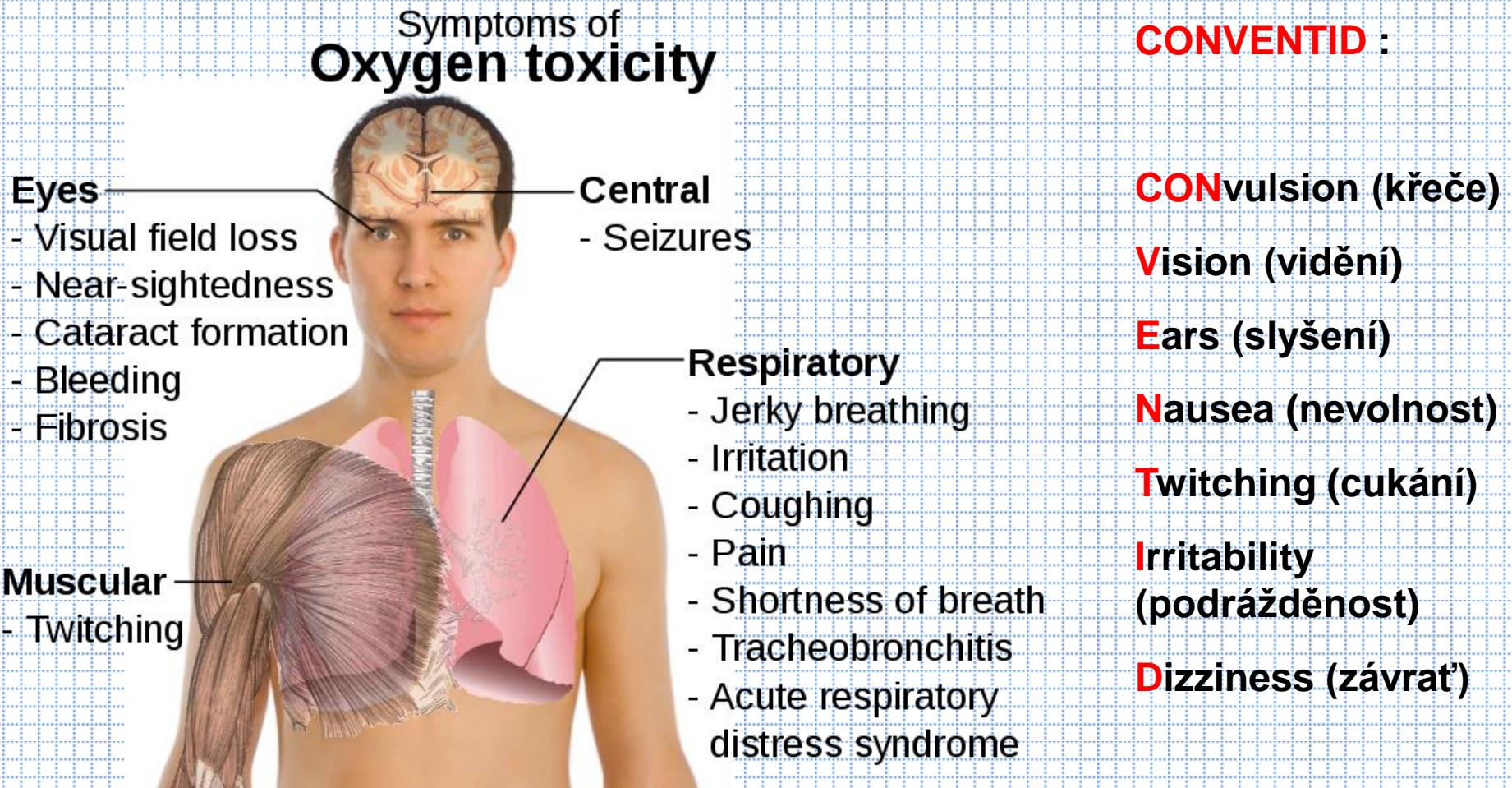
NOAA Oxygen Exposure Chart

PO2 Exposure (Atmospheres)	Maximum Single Exposure (Minutes)	Maximum 24 Hour Exposure (Minutes)
1.6	45	150
1.5	120	180
1.4	150	180
1.3	180	210
1.2	210	240
1.1	240	270
1	300	300
0.9	360	360
0.8	450	450
0.7	570	570
0.6	720	720

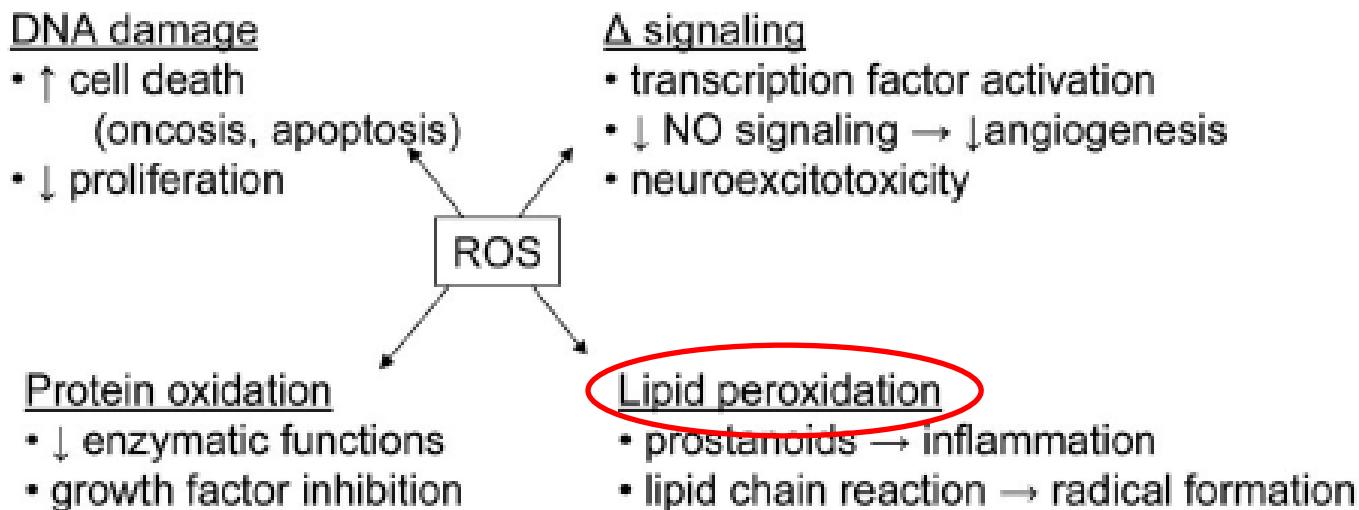
Proč NITROX ?



III. Kyslíková toxicita



III. Kyslíková toxicita

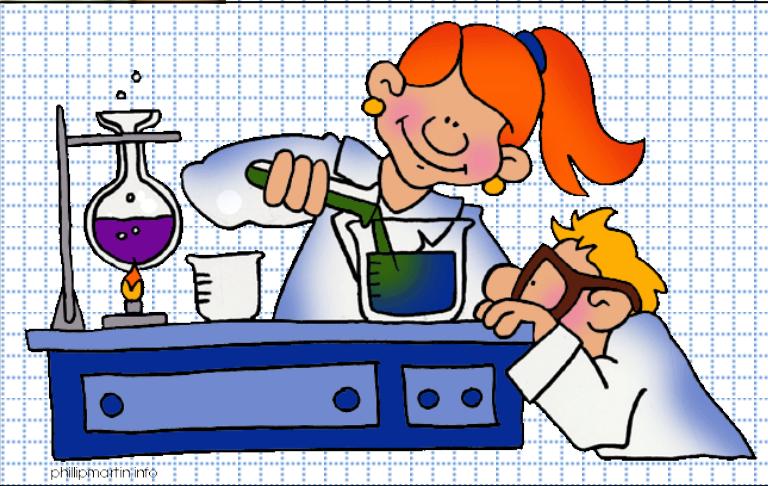


Antioxidační terapie :

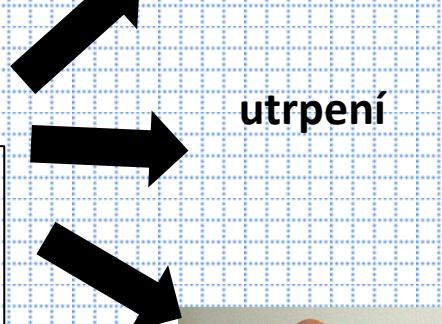
- **indukce SOD1/2/3, deficience SOD2 – letální**
- **suplementace vitaminy C a E – Žádny protektivní účinek !!!**

Slovo závěrem

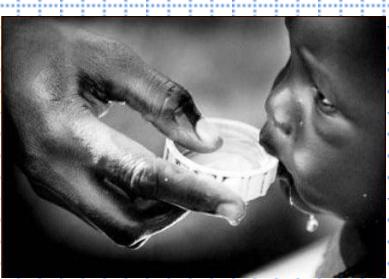
O čem je Toxikologie ???



bolest



utrpení



smrt



...veselá věda o smutných věcech...