

Vliv znečištění na organismy

Klára Hilscherová

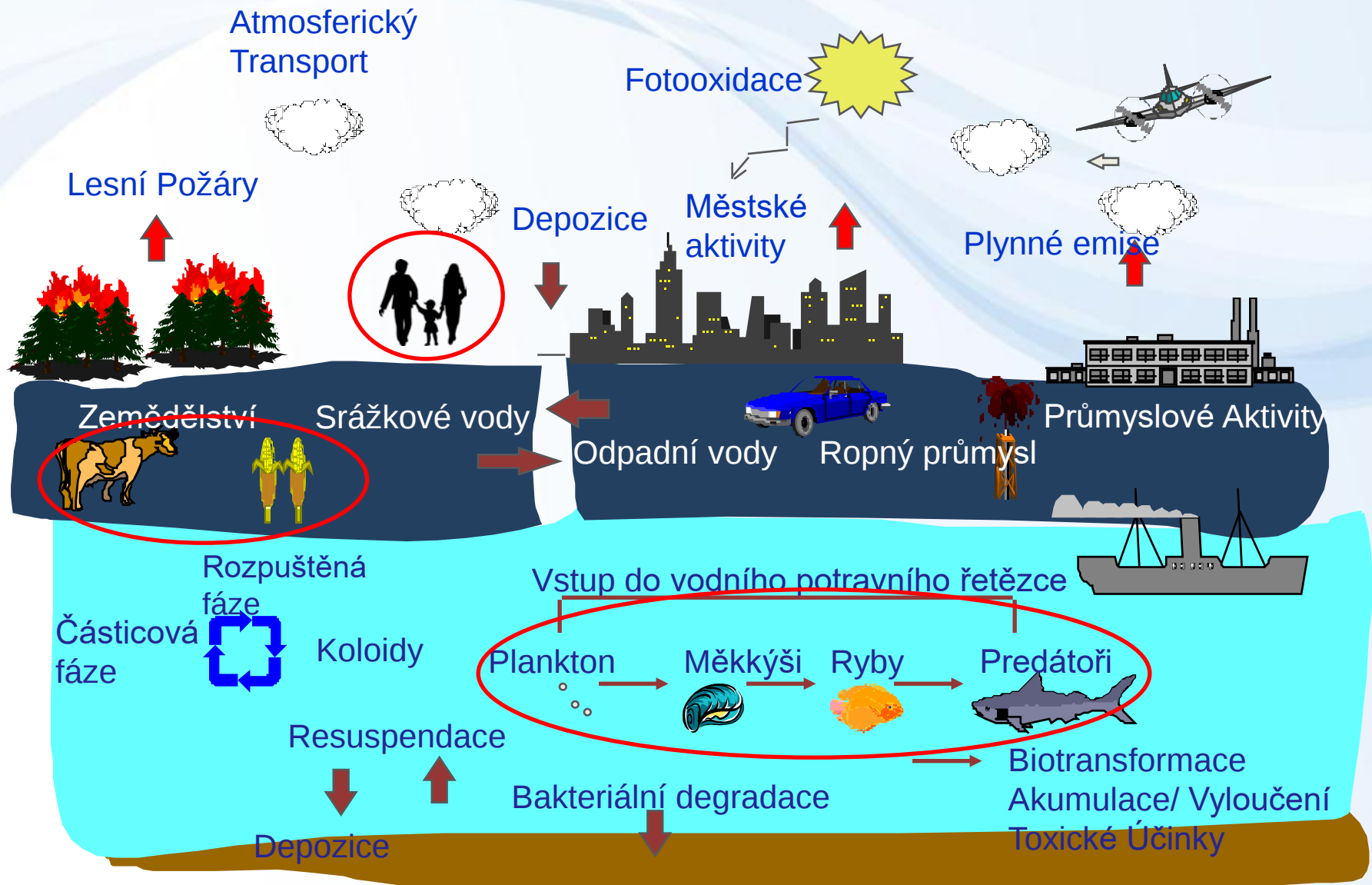
Centrum RECETOX

Přírodovědecká fakulta

Masarykova universita, Brno

hilscherova@recetox.muni.cz

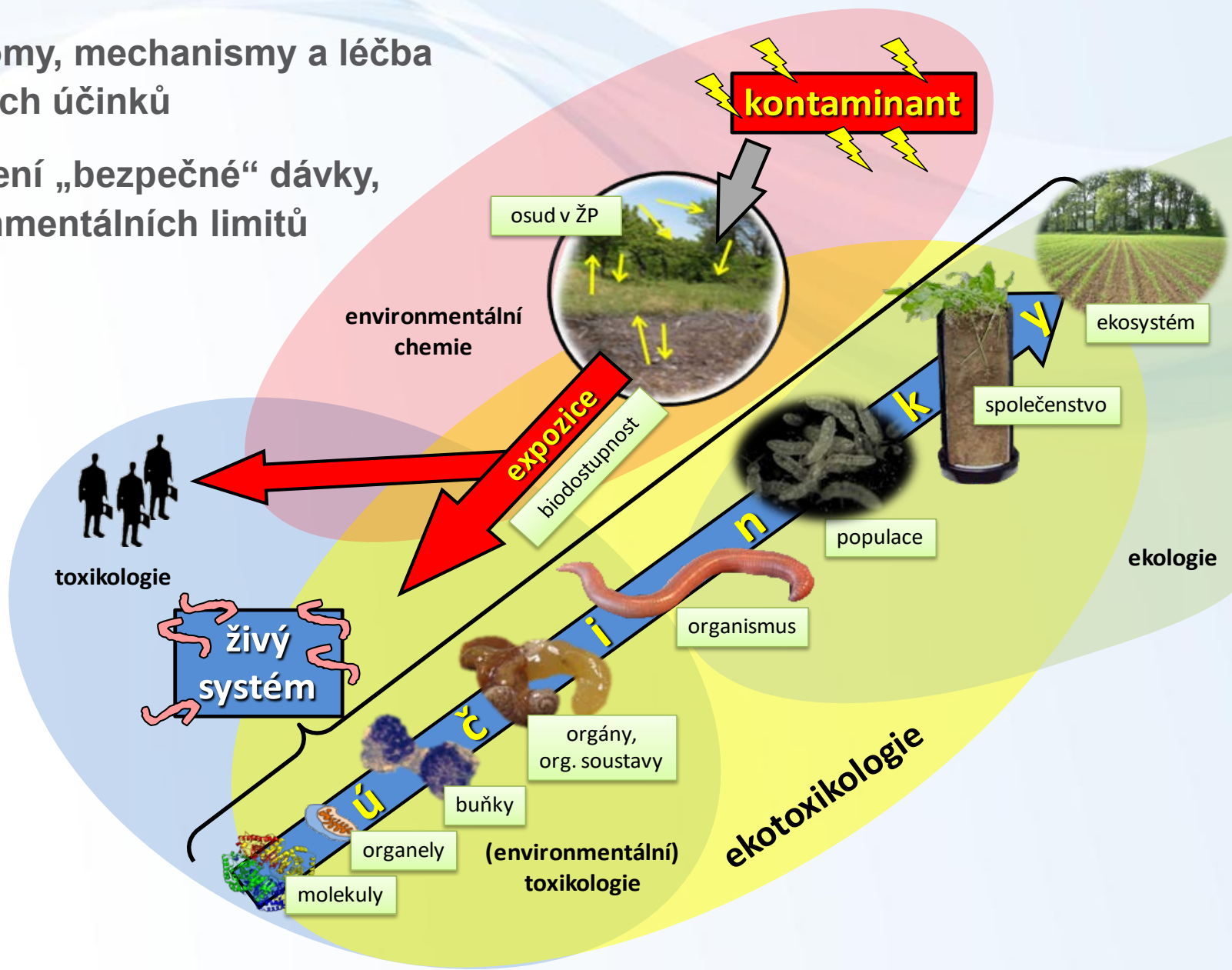
Environmentální osud a účinky polutantů



Toxikologie/Ekotoxikologie - studium škodlivých účinků chemických látek na živé organismy:

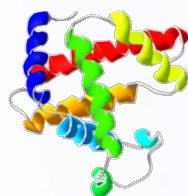
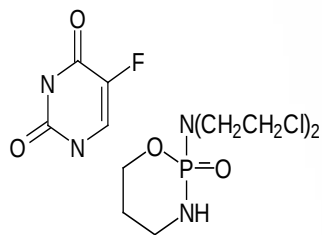
symptomy, mechanismy a léčba
toxických účinků

stanovení „bezpečné“ dávky,
environmentálních limitů



Environmentální toxikologie na PŘF MU

od mechanismů k porozumění účinkům v lidské populaci a v prostředí



Studie chemických látek & vzorků z prostředí

Chemické látky → Životní prostředí
→ Lidské zdraví

Směsi & terénní & epidemiologické studie

Eko-Toxikologie *in vivo*

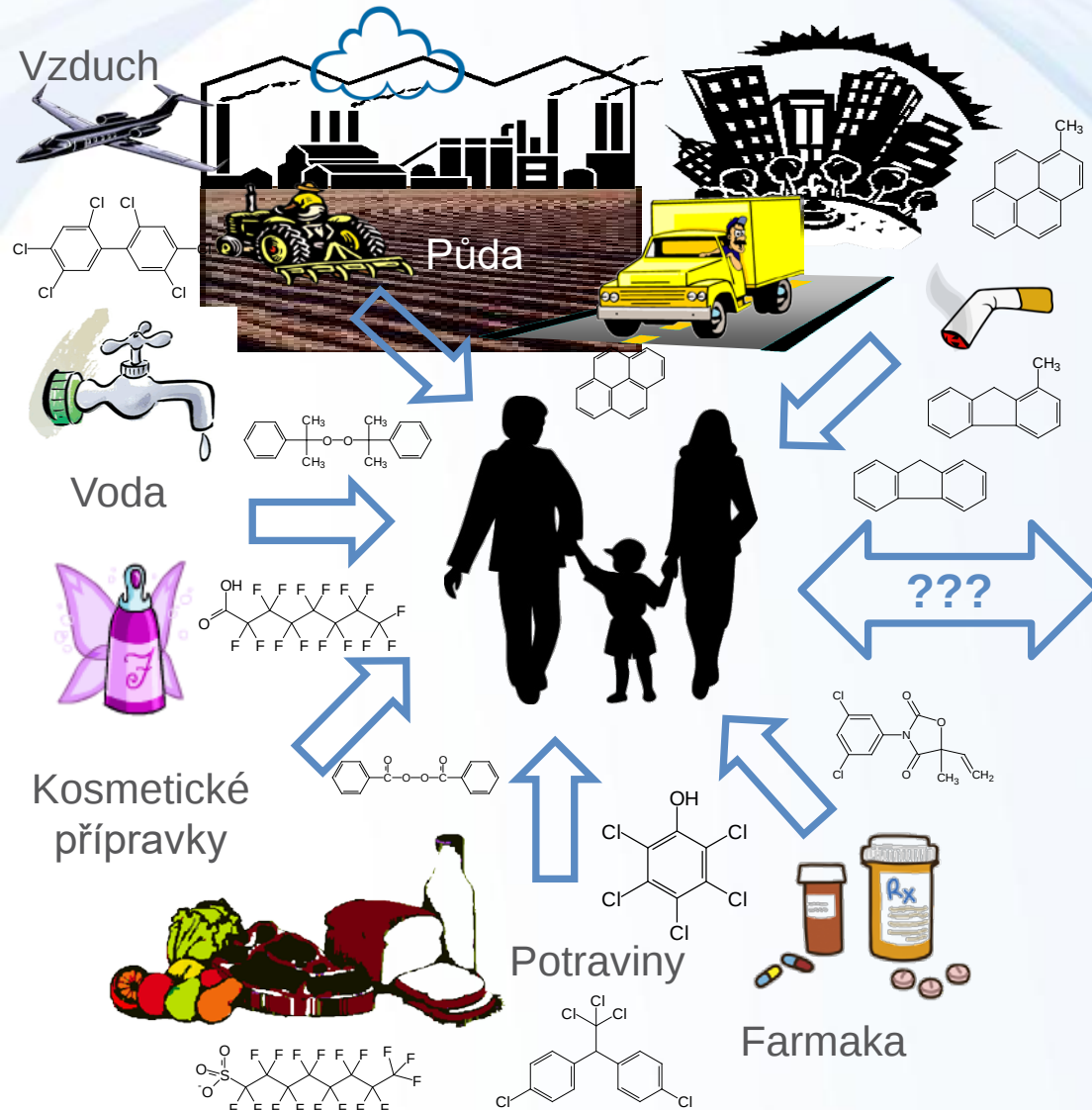
Akutní a chronické biotesty
Modely vývojové a reprodukční toxicity
Biomarkery subletálních účinků

Toxikologie *in vitro*
Mechanismy

Lidské/savčí//rybí buňky, reportérové
buněčné linie

Propojení env. chemie & toxikologie & epidemiologie

Environmentální toxikologie



Akutní účinky



Chronická onemocnění

- Autoimunitní onemocnění
- Poruchy plodnosti
- Neurodegenerativní a vývojové poruchy
- Chronické nemoci dýchacího traktu
- Rakovina

Toxické sinice



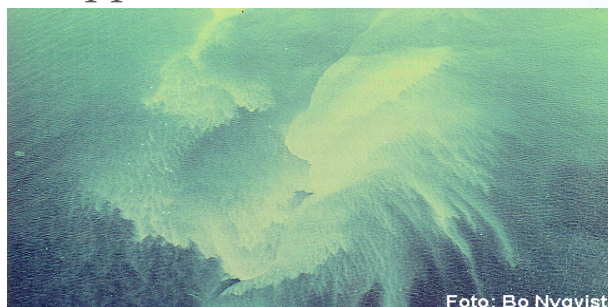
Upper Saranac River, USA



Bedetti Lake, Argentina



Neuse River, USA



Baltické moře, Evropa



Nové Mlýny, Česko



Žluté moře, Čína



Lake Mokoan, Austrálie



Jihoafrická republika

Masový rozvoj sinic – globální problém

CYANOTOXINY

! LIDSKÉ AKTIVITY !

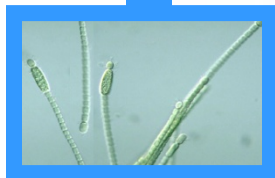
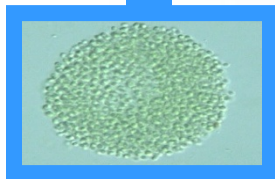
nárůst koncentrace CO_2
v atmosféře, nárůst UV
radiace

spalování

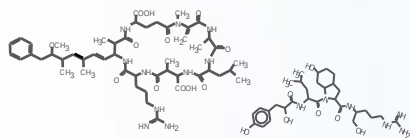
eutrofizace vodních
ekosystémů

*zemědělství,
odpadní vody*

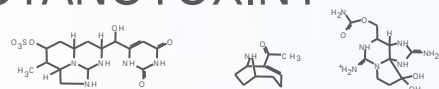
sinice
(cyanobaktérie)



masový rozvoj sinic
(vodní květy)



CYANOTOXINY



**GLOBÁLNÍ
ENVIRONMENTÁLNÍ
PROBLÉM**

SINICE (CYANOBAKTERIE)

- masový rozvoj sinic = **závažný problém**:
 - negativní vliv na chemismus vody (kyslík, pH..), produkce **pachů, pachutí**
 - narušení kyslíkového režimu (ranní anoxické zóny) - bakteriální rozklad biomasy sinic - náhlé vyčerpání kyslíku z vody
 - produkce **CYANOTOXINŮ** – látky toxické či jinak biologicky aktivní



- komplikace při využívání nádrží (vodárenství, rekreace, chov ryb)
- nebezpečí pro ostatní živé organismy - vliv na akvatické bakterie, zooplankton, ryby a obojživelníky, na chování zvířat, na vodní rostliny – menší prostupnost světla pro fotosyntézu



Vliv na člověka

- z pitné vody, z rekreační expozice
- alergie – vyrážky, zánět spojivek, bronchitida
- střevní a žaludeční potíže, bolesti hlavy, jaterní problémy

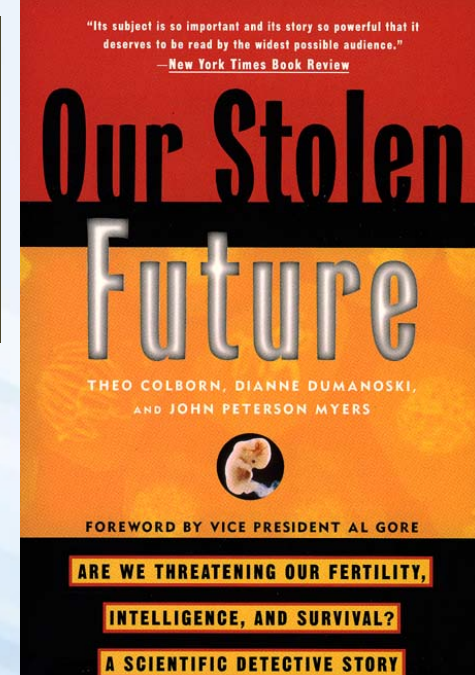


Foto: Kerstin Bohm



Endokrinní disrupce (ED) v prostředí a v lidské populaci

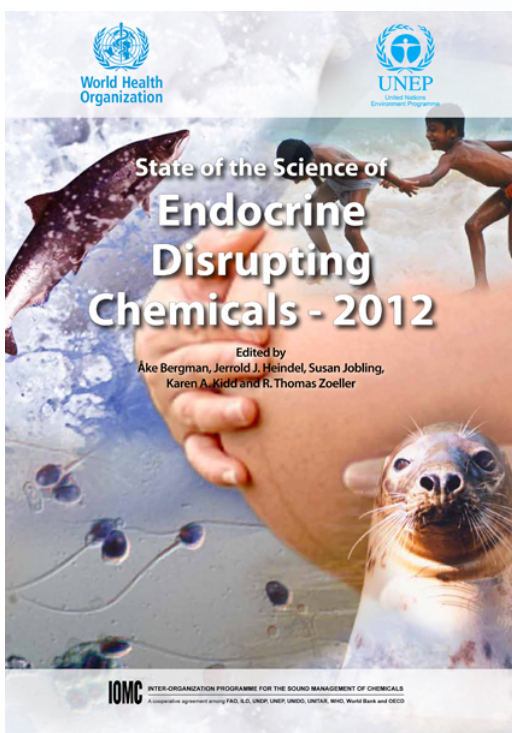
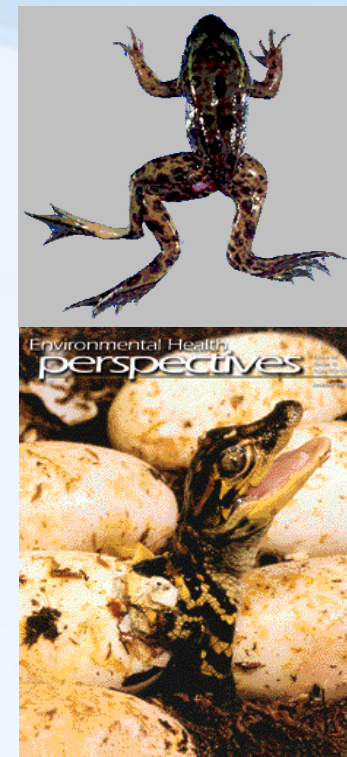
narušení hormonální rovnováhy organismů –
negativní následky pro celkovou homeostázu,
reprodukční, vývojové a behaviorální funkce



Endokrinní disruptory (EDCs)

*látky nebo směsi, které mají
schopnost způsobit endokrinní
disrupci u zasaženého organismu,
jeho potomků nebo (sub)populací*

přímo nebo nepřímo ovlivňují
hormonální systém



K čemu je endokrinní systém?

Endokrinní Funkce

- Udržování vnitřní rovnováhy
- Podpora růstu buněk
- Koordinace vývoje
- Koordinace reprodukce
- Zprostředkování odpovědi na vnější impulsy

ES je spolu s CNS hlavní řídicí systém organismu

Endokrinní disruptory (EDCs)

- Přírodní i syntetické látky
- Široké spektrum látek, persistentní a „pseudo“- persistentní
- Identifikováno cca 1000 potenciálních EDC
(The Endocrine Disruption Exchange, 2013)

Průmyslové chemikálie a vedlejší produkty

(PCBs, PCDD/Fs, PAHs)

Pesticidy (herbicidy, insecticidy, atraziny,
DDT a jeho metabolity ...)

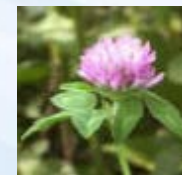
Změkčovače plastů (alkylfenoly, bisfenol A, ftaláty)

Rostlinné metabolity, fytoestrogeny, mykoestrogeny

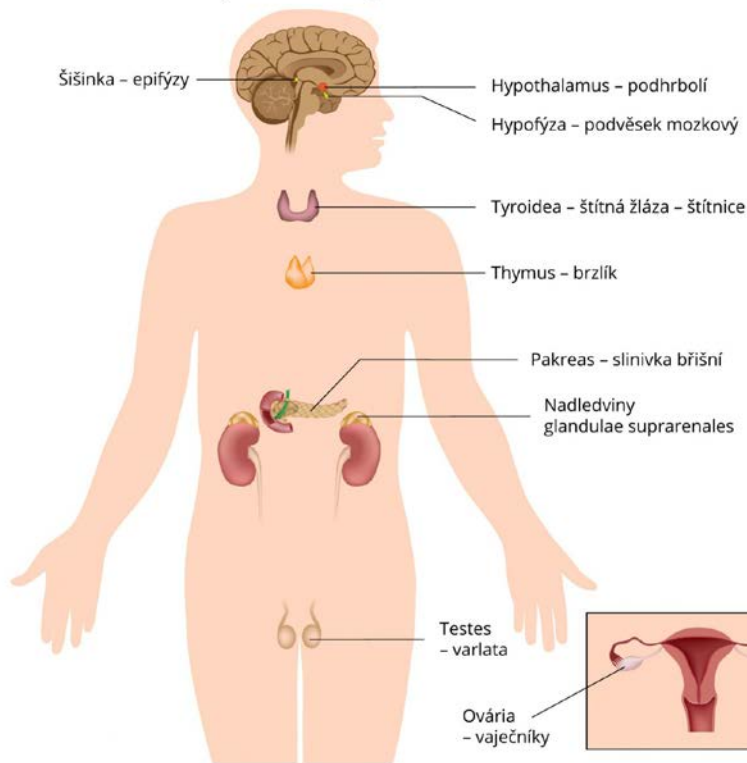
Farmaceutika, syntetické steroidy (antikoncepce,...)

Látky z detergentů, čistících prostředků,
kosmetických přípravků (cyklosiloxany, parabeny, triclosan)

Ochranné barvy (organocíny)

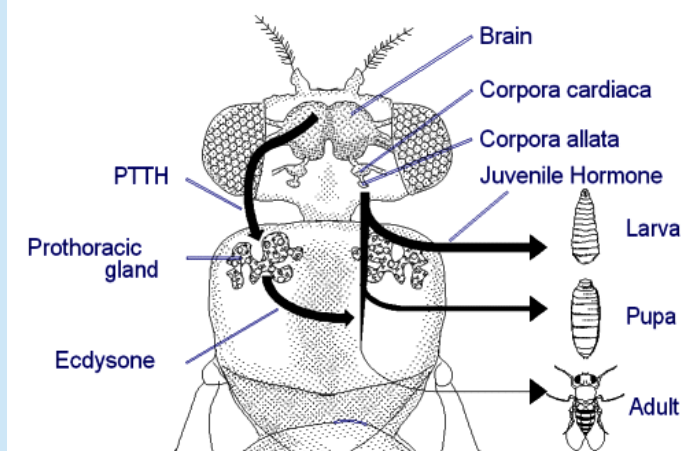


Endokrinní systém – systém žláz s vnitřní sekrecí



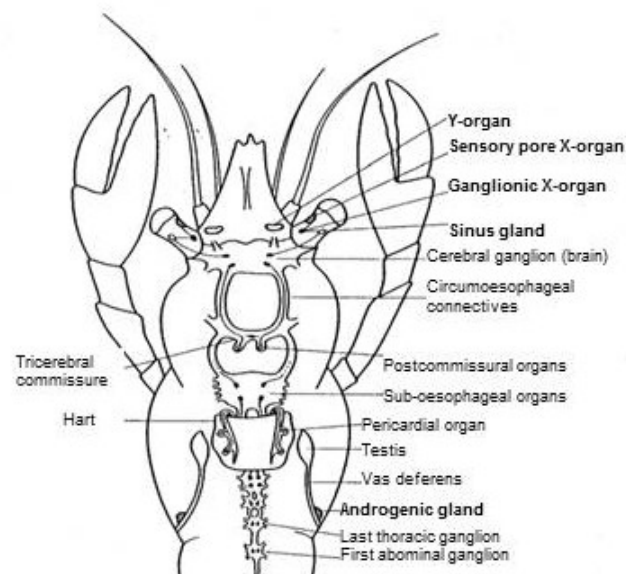
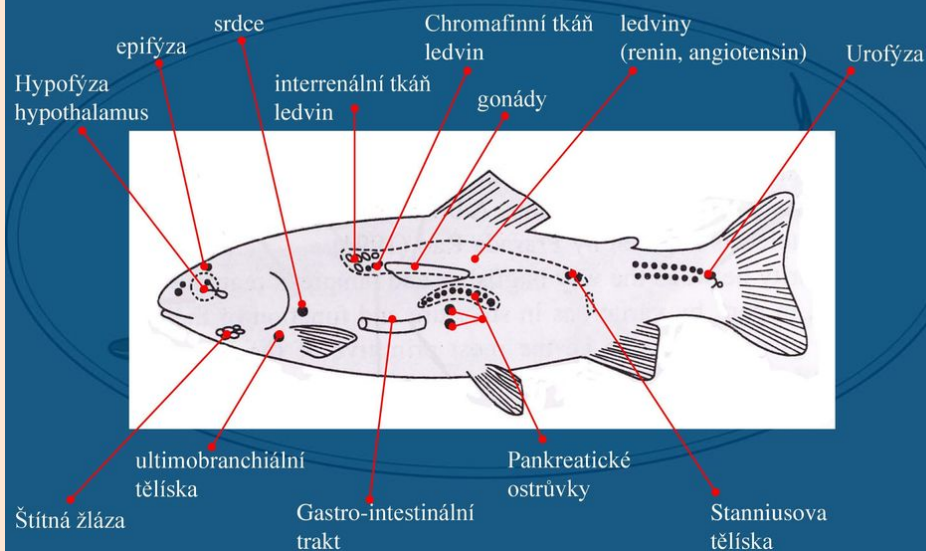
- estradiol, testosteron
- glukokortikoidy, mineralokortikoidy, thyroidy
- gonadotropin, růstový hormon
- melatonin, calcitonin, insulin ...

Hormonální regulace biologických procesů = společná charakteristika živočišného kmene – projevy ED u obratlovců i bezobratlých



- neuropeptidy
- ekdysteroidy, juvenilní hormony
- pohlavní steroidy (androgen, estradiol, progesteron)

Endokrinní žlázy ryb - schema



Důležitá fakta o účincích ED

- Účinky se projeví po expozici i velmi malými dávkami látek
- Účinky jsou velmi ovlivňovány načasováním expozice - stupněm vývoje, na kterém byl jedinec exponován
- Účinky odlišné během doby života organismu (fetus vs. embryo vs. dospělec)
- Účinky se pravděpodobněji projeví v mláďatech, než v dospělci
- Účinky často opožděné - ke kompletním projevům nemusí dojít až do dospělosti



Následky ve volně žijících živočiších

- Změněný poměr pohlaví, intersex
- Snížená plodnost, kvalita a kvantita spermatu
- Malformace pohlavních orgánů
- Snížená líhnivost
- Snížené přežívání mláďat
- Narušení funkce imunitního systému
- Abnormální funkce a vzhled štítné žlázy
- Změny chování
- Vymizení populací



⇒ Vliv na populace ⇒ dopady v ekosystémech



Projevy u **volně žijících živočichů** - příklady

Malformace - změny v pohlavních orgánech → poruchy reprodukce:

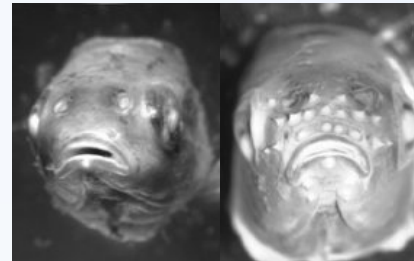
Hemi- a minipenis aligátorů - Jezero Apopka na Floridě

Feminizace samců ryb (ovotestes)

v povrchových vodách znečištěných
odpadními vodami v severní Americe a v Evropě

Maskulinizace samic ryb

- pod výpustěmi z papíren
- v tocích pod farmami živočišné výroby



IMPOSEX u předožábřích plžů - tvorba penisu a
chámovodu u samic - nepřímý xeno-androgenní efekt
organocínů - **lokální vymizení populací měkkýšů**



Endokrinní disrupce u plazů

- Samci aligátorů z jezera Apopka (Florida) demaskulinizováni
- Demaskulinizace - výrazně zmenšené sekundární pohlavní znaky (1/3 až 1/2) proti normálním zdravým samcům
- Nízké hladiny testosteronu i estrogenu, ale měli více estrogenu než testosteronu
- Vylíhlá mláďata byla buďto samice s normálními vaječníky nebo samci s intersexem (žádní normální samci) a byla u nich zvýšená mortalita
- Byla snížena líhnivost v populaci
- způsobeno únikem DDT



Ekosystémová studie – Kanada

2000-2005

Estrogen (17 α -ethynylestradiol) aplikován
do jezera – cílová konc. 5 ng/L

(v povrchových vodách v Evropě 0–23ng/L)

- poločas života 12 dní
- aplikován 3x týdně po 21 týdnů (jaro-podzim)
- 1. rok - nejvýznamnější účinky u ryb s kratší dobou života, které se třou jen 1x za sezonu (střevle) – **zvýšení hladin samiččích proteinů 9000x u samců, zpoždění vývoje pohlavních orgánů**
- 2.,3. rok – vajíčka v samčích gonádách, pokles reprodukce, téměř žádná nová generace střevlí – **kolaps populace**
 - podobné účinky u tloušťů - výskyt **intersexu**
- 3. rok pokles populací a méně mladých i u dravých ryb – pstruha jezerního – především díky nedostatku potravy
⇒ OVLIVNĚNÍ CELÉHO EKOSYSTÉMU
- Po ukončení aplikace – za 2 roky – znovubudování populací střevlí a tloušťů, zvýšení populačních hustot pstruha



Organocíny

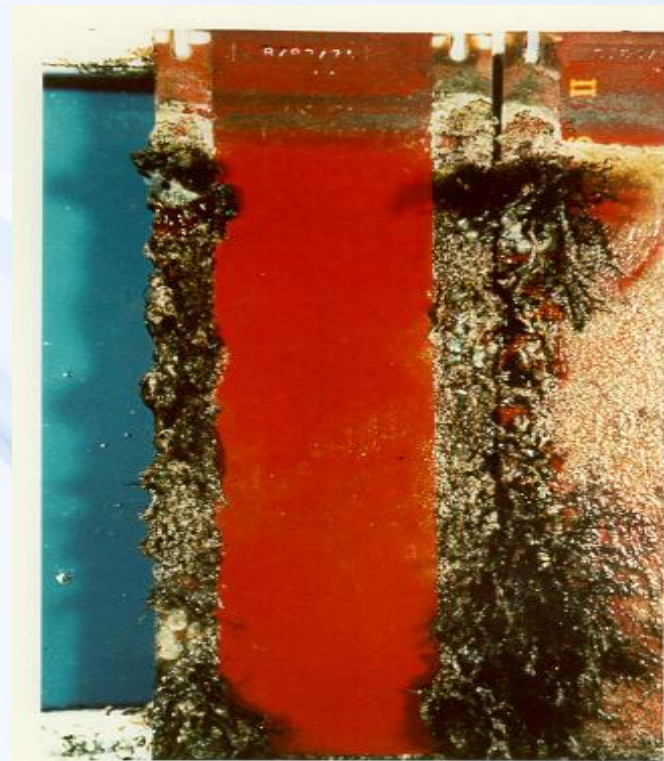


Stabilizátory plastů

Biocidy: Fungicidy
Insekticidy
Baktericidy

Nátěry proti zarůstání a nánosům na
trupech lodí (Anti-fouling paints)

TBT = tributylcín



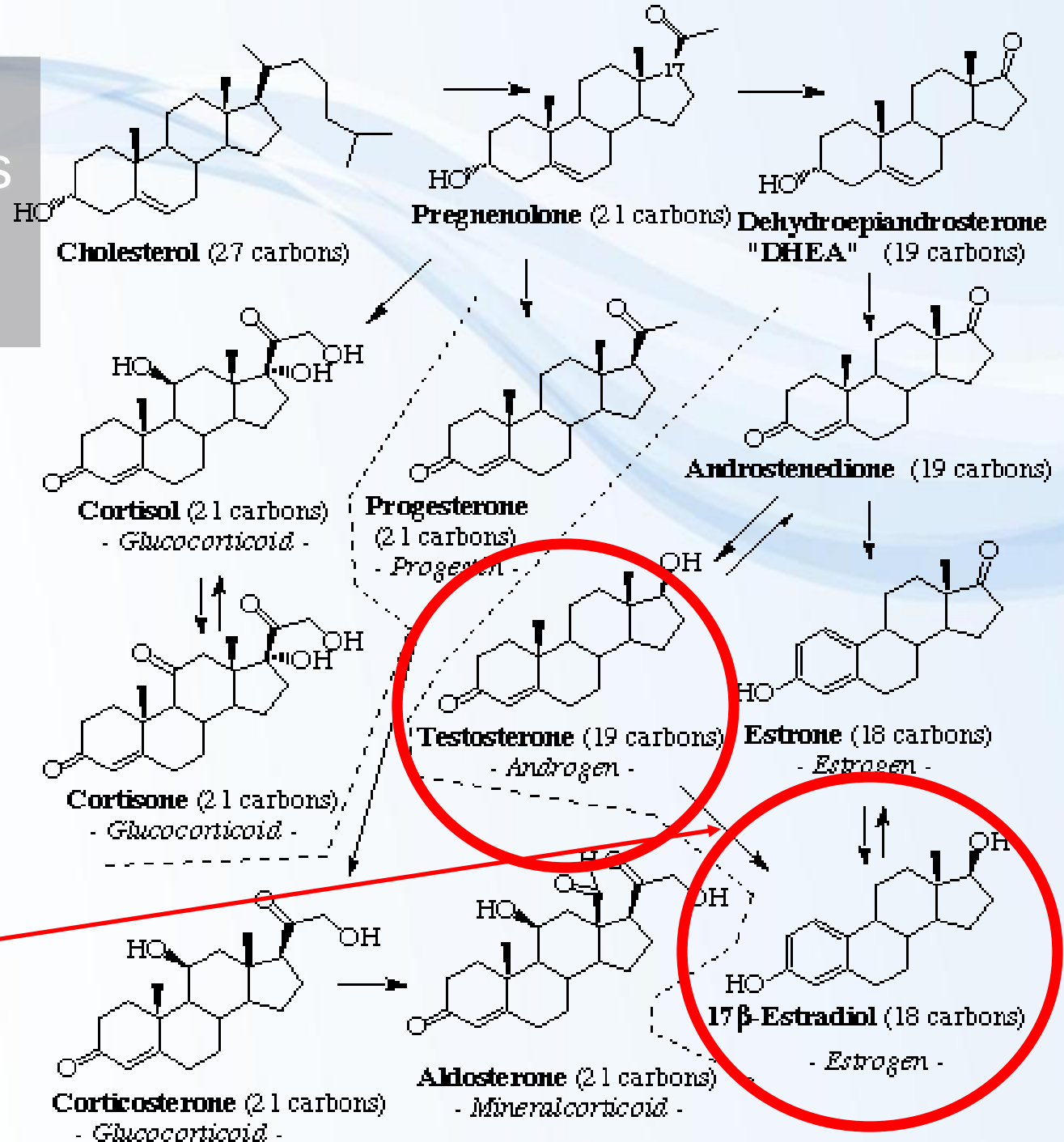
Pomalá biodegradace

Akumulace ve vodě a sedimentu

Bioakumulace

TBT používán na lodě od 60. let
První efekty na měkkýších - 70. léta
Zákaz používání v EU - 2003

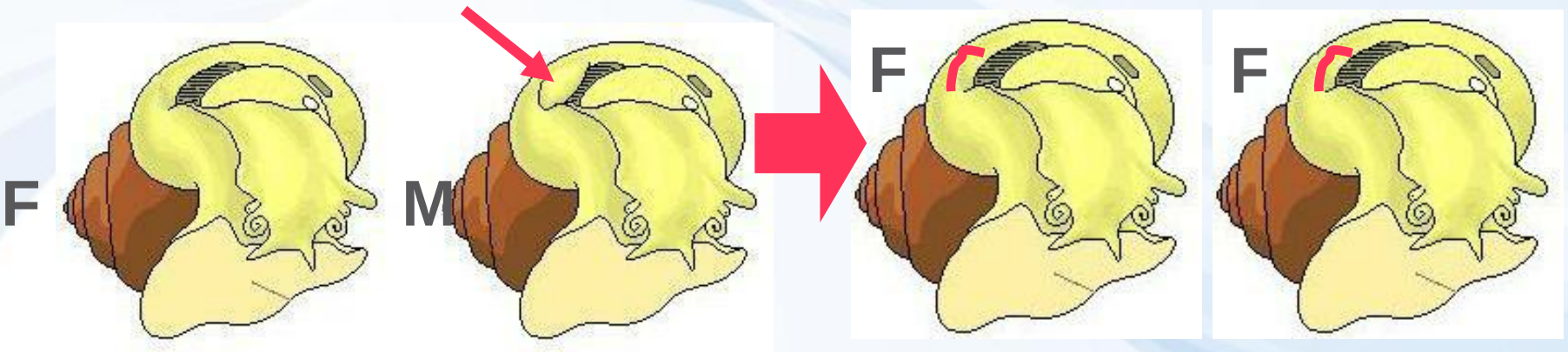
Vliv na metabolismus steroidních hormonů



TBT

P450 aromatase

IMPOSEX u předožábřých plžů



Nepřímý xeno-androgenní efekt organocínů (persistentní)

- Tvorba penisu a chámovodu u samic
- Maskulinizace samic
- Efekt chronické expozice biocidu TBT u necílových organismů

Důsledek: lokální vymizení populací měkkýšů

Širší souvislosti kontaminace organocíny ve vodním prostředí

Kolaps populace měkkýšů



Snížení spásání řas a makrofyt



*Velký rozvoj populací vodních rostlin, zarůstání
vodních toků*

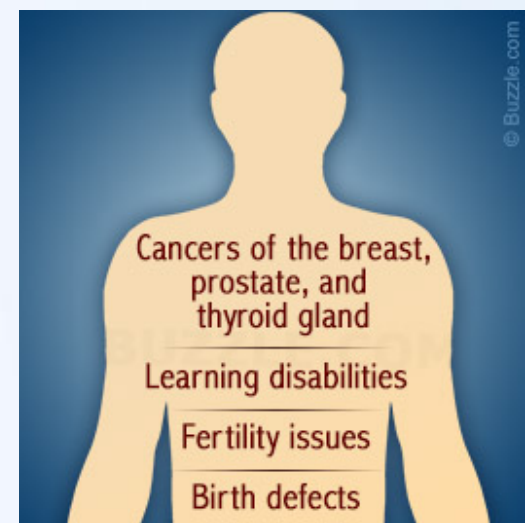


Pokles populací ryb

Takto je dramaticky ovlivněn celý akvatický
ekosystém

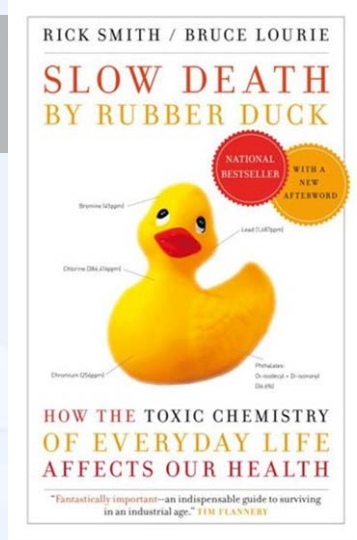
Vlivy v lidské populaci?

- poruchy reprodukce, pohlavního vývoje
- abnormality či onemocnění pohlavních orgánů
- změny poměru pohlaví
- poruchy imunity
- narušení vývoje nervové soustavy
- snížené kognitivní schopnosti
- metabolické poruchy
- obezita
- hormonálně podmíněné nádory
- poruchy funkce štítné žlázy

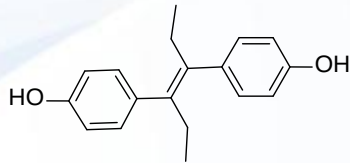


Důvody a indikace účinků v lidské populaci

- o Nárůst výskytu endokrinních onemocnění a poruch souvisejících s endokrinním systémem u lidí
- o Rychlost nárůstu incidence onemocnění spojených s endokrinním systémem v posledních desetiletích není možno vysvětlit pouze genetickými faktory
- o Pozorované účinky mohou být vysvětleny endokrinním mechanismem působení
- o Identifikace schopnosti chemických látek narušovat endokrinní (hormonální) regulaci v laboratorních studiích
- o Endokrinní účinky pozorované u volně žijících živočichů
- o Zvýšený počet chemických látek s vlastnostmi narušujícími endokrinní funkci, nové mechanismy působení; zvýšená zátěž na celém světě
- o Nedostatečné testování účinků



Vývojová toxicita - Diethylstilbestrol (DES)



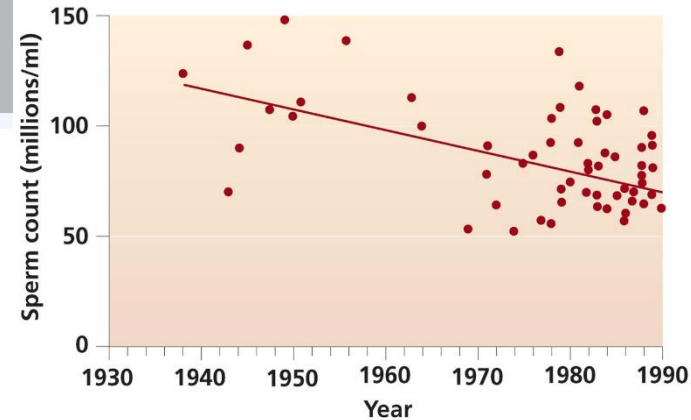
DES – nejznámější chemická látka ovlivňující fungování ženského reprodukčního systému

- Syntetický **nesteroidní estrogen** užívaný jako perorální kontraceptivum, prevence spontánních potratů (40.-70. léta 20.století)
- Zákaz používání DES pro chov drůbeže z důvodu účinků na mužské pracovníky farem
- Nakonec zákaz použití pro těhotné ženy
- DES je prokázaný endokrinní disruptor; nejvážnější postižení vyvolává u dcer matek užívajících DES během těhotenství („DES dcery“)
 - 40x větší pravděpodobnost rozvoje vzácného typu rakoviny děložního čípku a pochvy
 - vyšší pravděpodobnost rozvoje rakoviny prsu u dcer i matek
 - větší riziko sterility, potratů, mimoděložních těhotenství, předčasných porodů
- „DES synové“- anomálie ve vývoji pohlavního ústrojí (varlata, nadvarlata)
- důsledky expozice DES pozorovatelné ještě v další generaci (DES-vnoučata)



Trendy v oblasti lidského reprodukčního zdraví

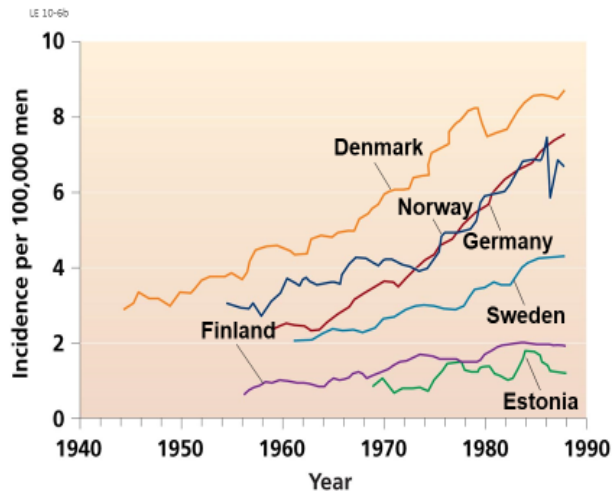
- snížená kvalita spermatu (snížené počty, pohyblivost, změna morfologie spermií)
- zvýšená četnost abnormalit mužského reprodukčního traktu
- změna poměru pohlaví (méně chlapečků)
- předčasný vývoj prsů



(a) Pokles kvantity spermatu, založený na 61 studiích

Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Jak významnou roli hrají v těchto trendech endokrinní disruptory?



(b) Increasing incidence of testicular cancer

Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

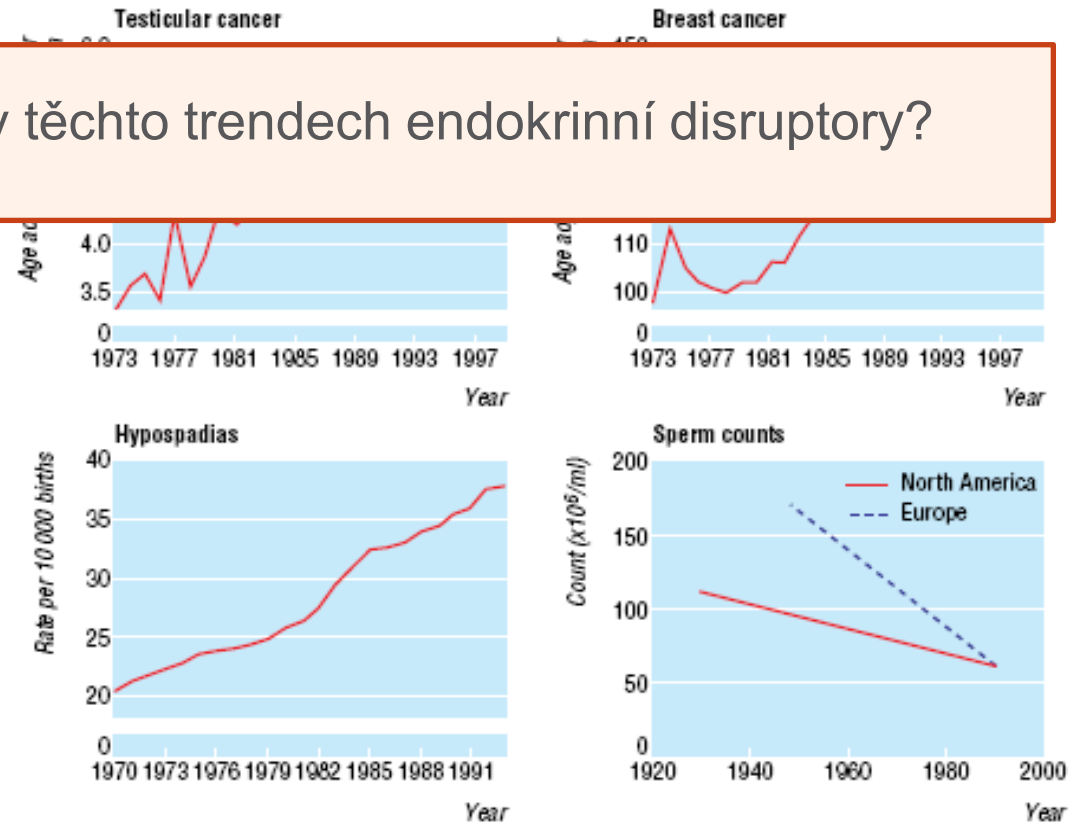


Fig 2 Trends in reproductive health, United States (for data sources see bmj.com)

Jaké důkazy spojují lidské reprodukční problémy s EDC?

- Dívky matek s vyššími koncentracemi organochlorových chemikálií vstoupily do puberty v průměru o 11 měsíců dříve než kontroly
 - Opožděná puberta u chlapců exponovaných organochlorovému pesticidu
 - U matek mužů s rakovinou varlat se vyskytují vyšší hladiny organochlorových chemikálií
-
- Vliv znečištění ovzduší na poměr pohlaví
 - Vysoké hladiny ftalátu v krvi u dívek s předčasným vývojem prsů z Puerto Rico
 - Souvislost expozice ftaláty s gynekologickými problémy
 - Zvýšení počtu experimentálních důkazů o ovlivňování endokrinní signalizace chemickými látkami:
 - ❖ Začátek puberty
 - ❖ Plodnost
 - ❖ Menopauza

news@nature.com
The best in science journalism

Published online: 21 October 2005; | doi:10.1038/news051017-16

Pollution makes for more girls

The stress of dirty air skews sex ratios in Sao Paulo.

Erika Check

Toxic fumes favour the fairer sex, a group of researchers in Brazil has found.

Jorge Hallak and his team at the University of Sao Paulo turned up the surprising result by studying babies born in their city. They divided the metropolis of 17 million people into areas of low, medium and high air pollution, using test results from air-quality monitoring stations. They then studied birth registries of children born from 2001 to 2003.

The team found that 48.3% of babies were female in the least polluted areas, but 49.3% were female in the dirtiest parts of town. After measuring the ratio of boys to girls born in all the areas, they calculated that 1,180 more babies would have been boys in the polluted areas if they had the same sex ratios as the cleaner areas. The team reported their findings on 17 October at the

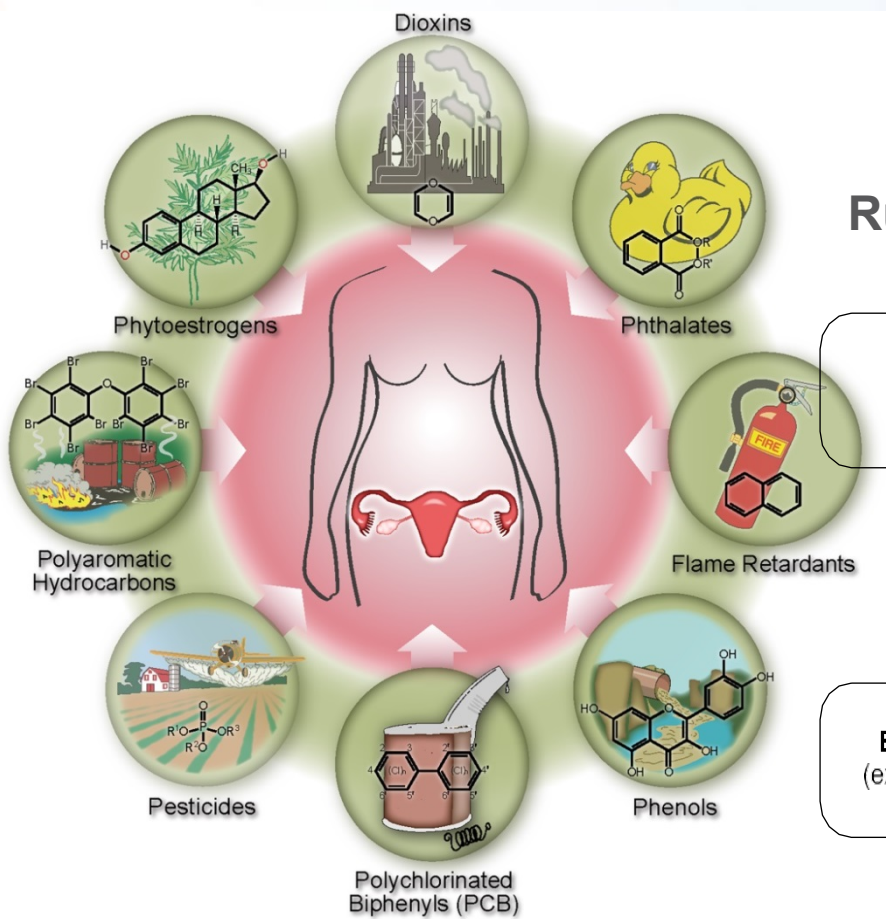


Babies born in high pollution areas are more likely to be girls.

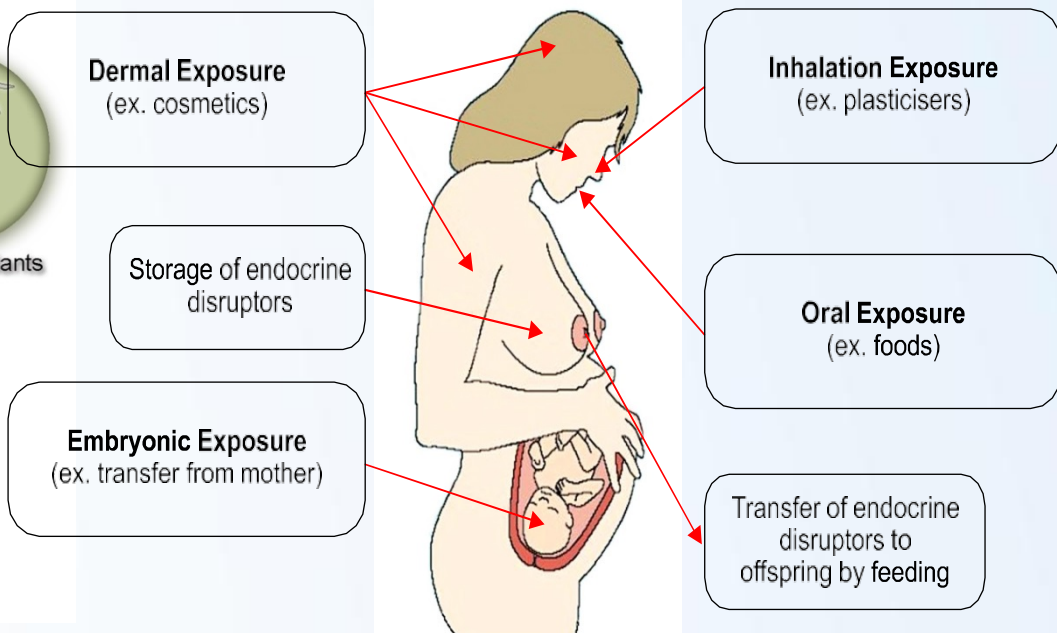
© Alamy

Polutanty v prostředí

- Komplexní směs látek
- Tisíce komerčně produkováných látek
- Další tisíce výrobních a degradačních meziproductů



Různé expoziční cesty

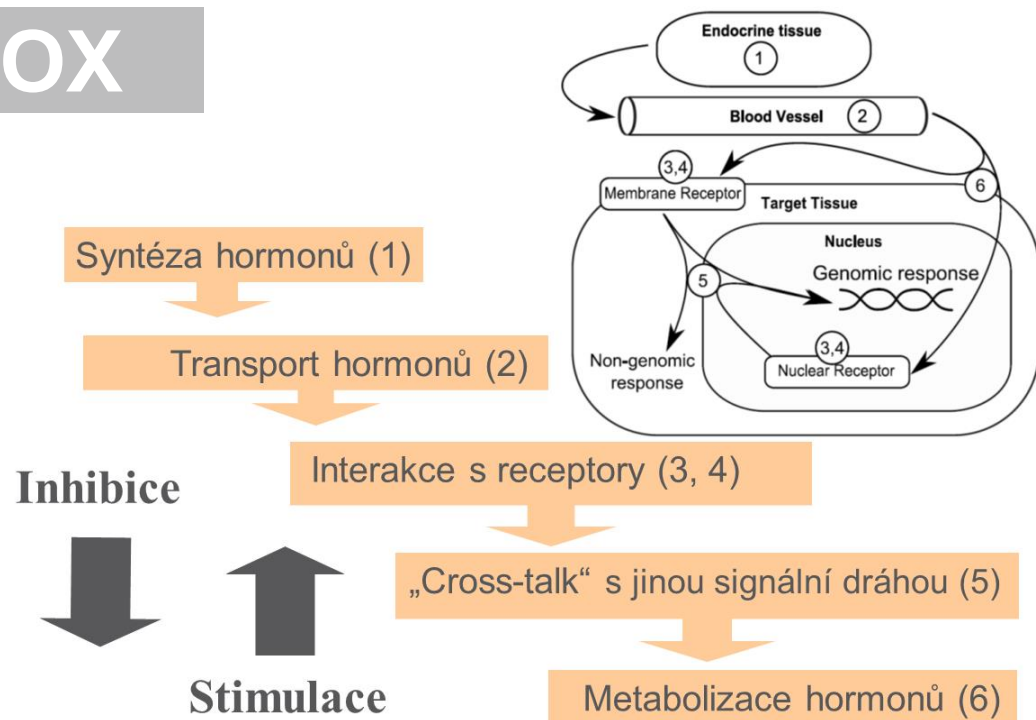


Přístupy na RECETOX

- Vývoj a aplikace biodetekčních a analytických metod pro studium zatížení a účinků EDCs

- **Analýza vybraných ED látek**
- v prostředí, v krvi, v moči
(GC-MS, HPLC-MS-MS)

- ***In vitro* a *in vivo* biodetekční systémy**
 - *In vitro* buněčné linie pro studium narušení endokrinní regulace – relevantní lidské buněčné modely
 - *In vivo* modely narušení hormonální rovnováhy a reprodukce – zejména s ohledem na raný (neuro)vývoj
- **Analýza biomarkerů ED** – široké spektrum thyroidních a steroidních hormonů (HPLC-MS-MS, bioanalyzátor)



Endokrinní disrupce

Biodetekční přístupy

Syntéza hormonů

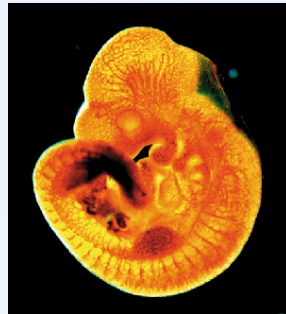
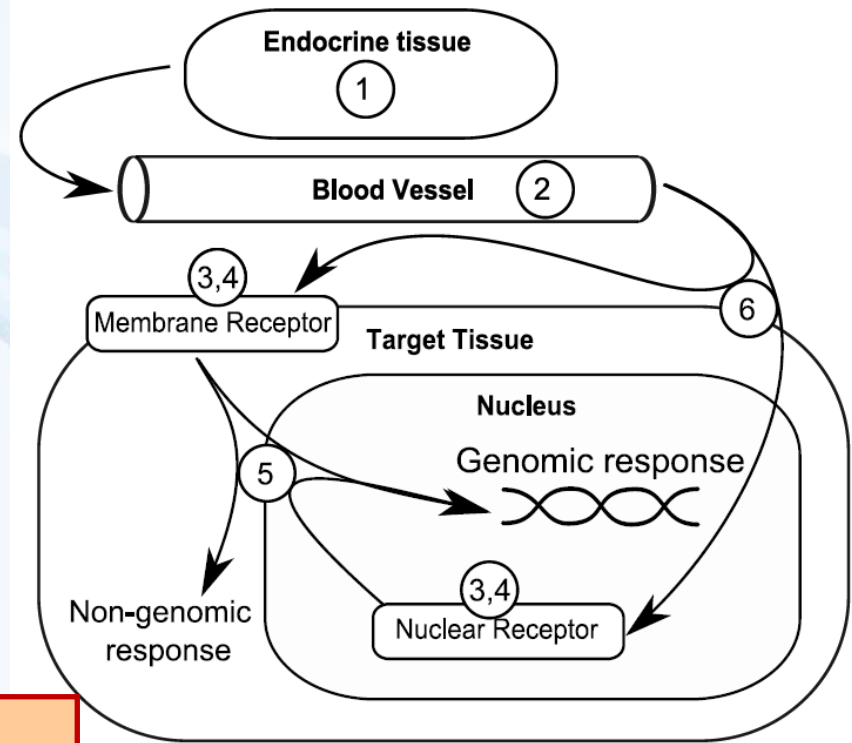
Transport hormonů

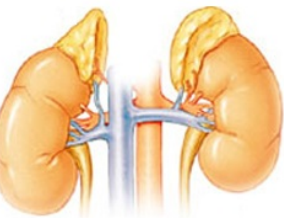
Inhibice

Interakce s receptory

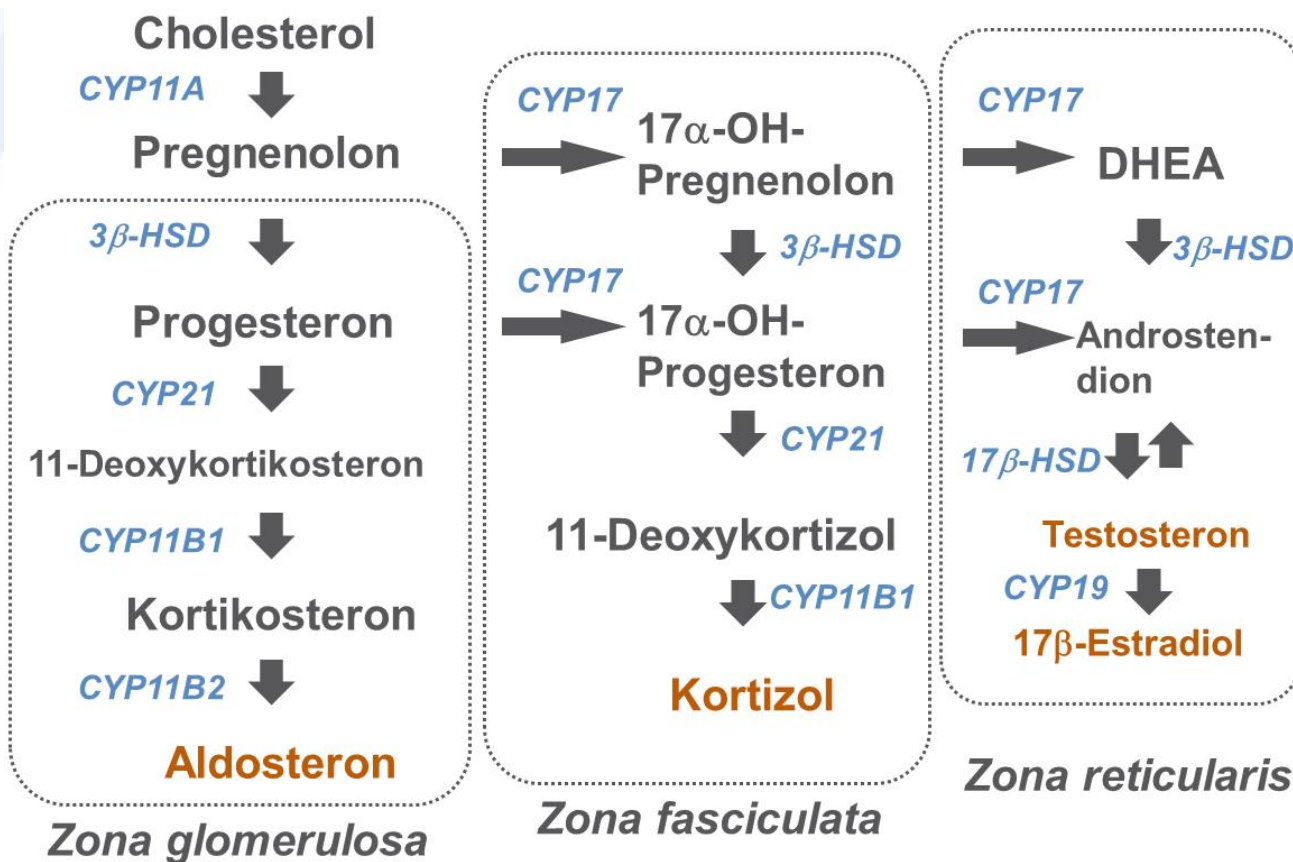
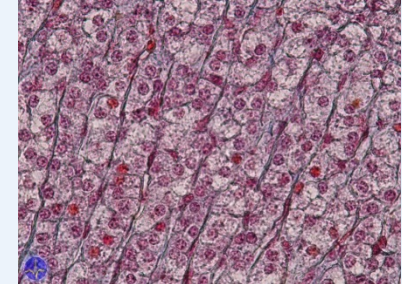
Metabolizace hormonů

Stimulace





Syntéza hormonů



lidská kůra nadledvin

- účinky na různých úrovních produkce hormonů

- modulace genů
- aktivity enzymů
- produkované hormony

Interakce s jadernými receptory

Anti/estrogenita

Estrogenní receptor (ER)

- vývoj pohlaví, řízení reprodukce, karcinogeneze, ovlivňuje proliferaci, diferenciaci, vývoj a homeostázu

Anti/androgenita

Androgenní receptor (AR)

- vývoj pohlaví, samčích pohlavních charakteristik, řízení reprodukce, ovlivňuje růst, spermatogenezi

Anti/thyroidní aktivita (TR)

Thyroidní receptor (TR)

- klíčový pro vývoj ptáků a savců, metamorfózu ryb a obojživelníků, vývoj lidského mozku, plic a dalších orgánů

Anti/retinoidní aktivita

Receptor kyseliny retinové (RAR)

- reguluje růst, morfogenezi, apoptozu a diferenciaci, ovlivňuje nervový a imunitní systém, vidění a embryonální vývoj

Anti/glukokortikoidní aktivita

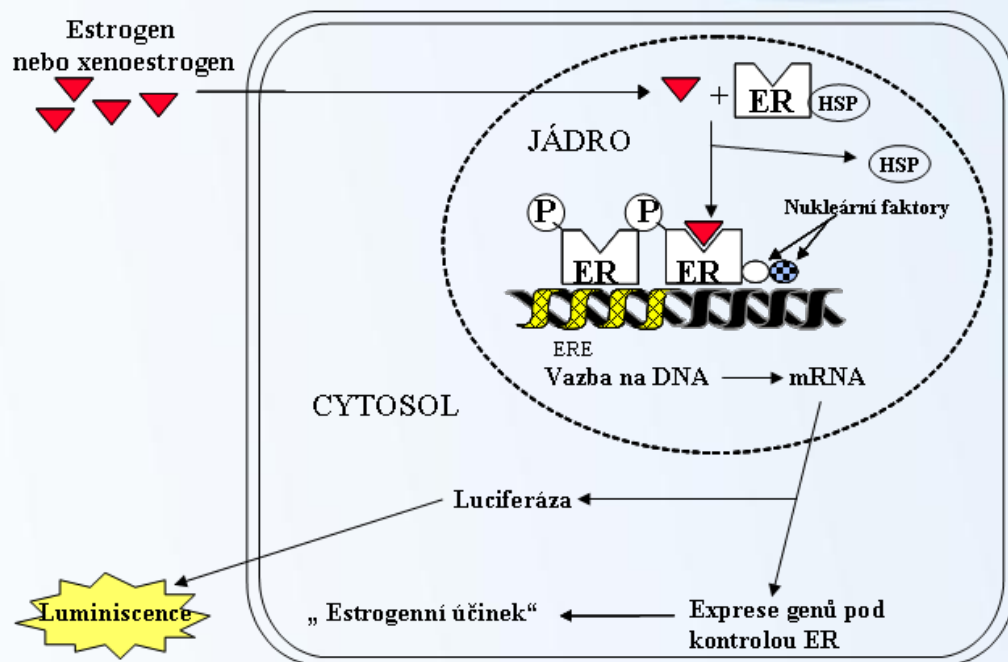
Glukokortikoidní receptor (GR)

- ovlivňuje vývoj, metabolismus, imunitní odpověď, reakci na stres

Toxicita dioxinového typu

Aryl hydrokarbonový receptor (AhR)

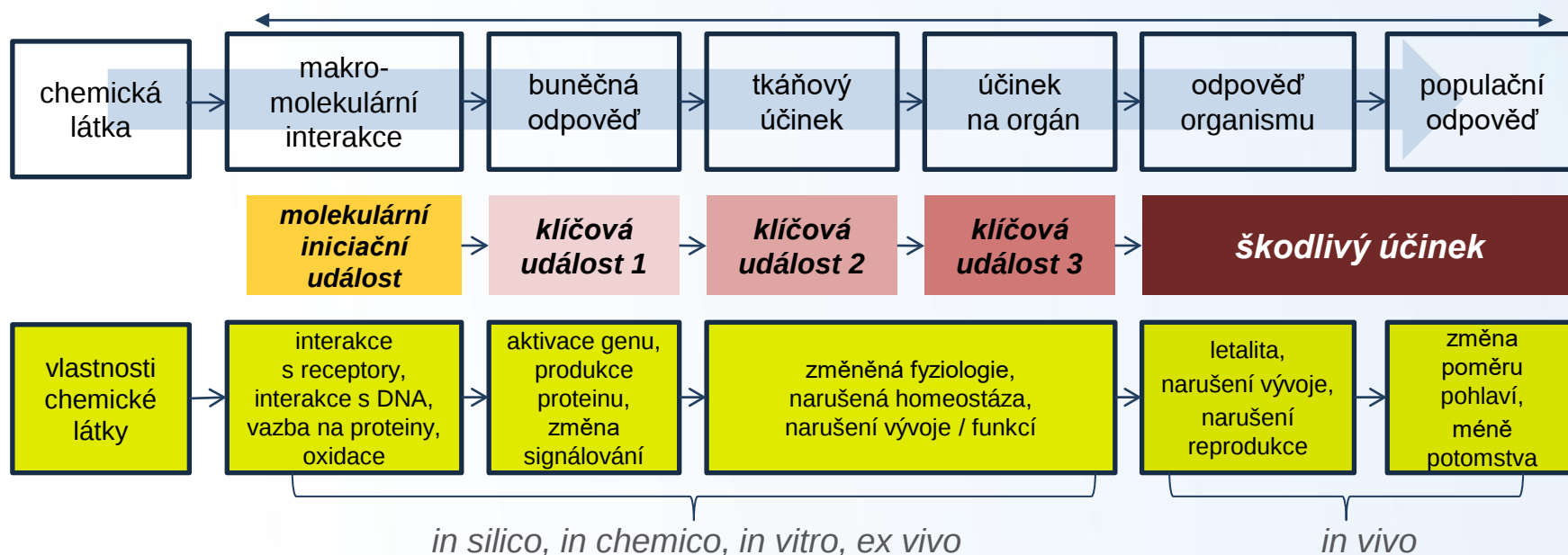
- narušení funkce jater, imunity a reprodukce, hormonálních signálních drah, endokrinního a nervového systému, embryotoxicita



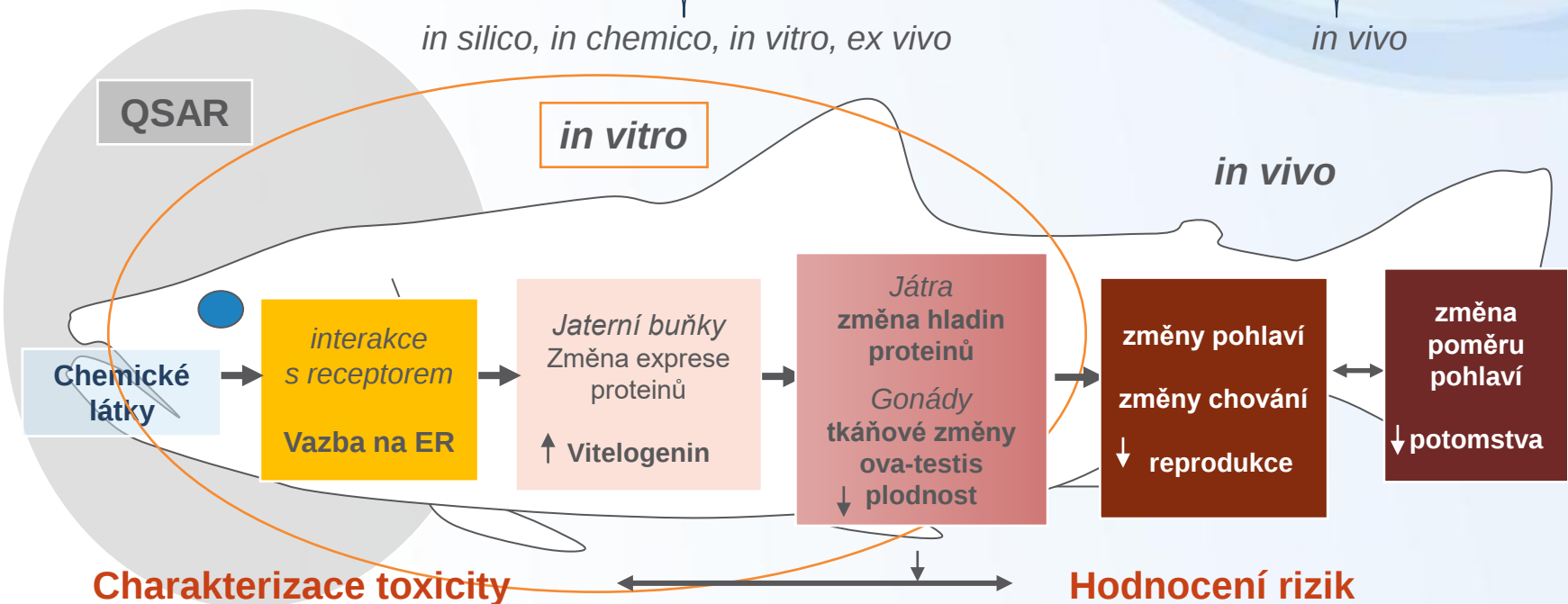
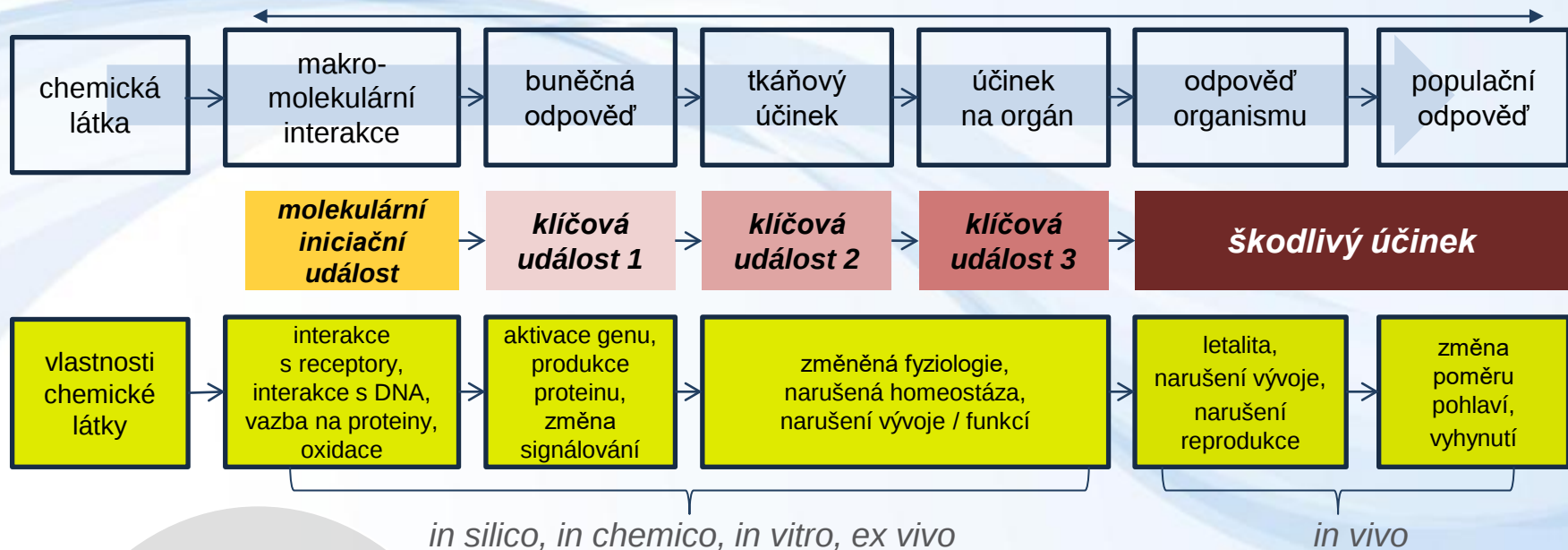
Aktuální Priority

- ❖ Posílení znalostí ohledně expozice a účinků EDCs
- ❖ Zlepšení testování ED vlastností látek
- ❖ Hodnocení ED potenciálu směsí
- ❖ Identifikace prioritních EDCs
- ❖ Redukce expozice a tudíž náchylnosti k chorobám
- ❖ Metody pro kritické hodnocení prokazatelnosti účinků v populaci
- ❖ Dráhy škodlivého účinku

Dráha škodlivého účinku



Dráha škodlivého účinku



Vzdušné polutanty

- Řada zdrojů (doprava, topení,...)
- Vzdušné polutanty v plynné a/nebo pevné fázi
- Tradičně spojovány s plicními a srdečními chorobami
- Nově – vliv na reprodukci, endokrinní systém:
 - negativní korelace mezi poměrem pohlaví u novorozenců v Sao Paulu a hladinou pevných částic ve vzduchu
 - stejný efekt u hlodavců
 - pokles kvality spermatu u mužů vybírajících mýtné na dálnicích, u dopravních policistů

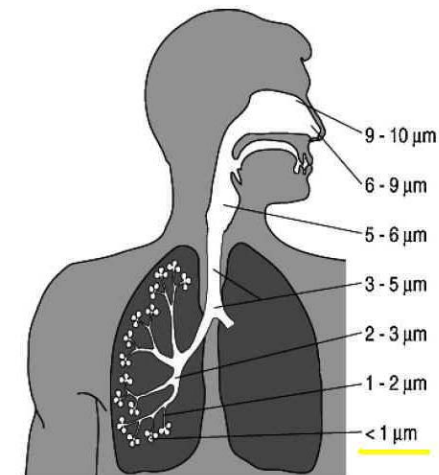


Figure 2 Particle deposition in respiratory system

Studované regiony (odběr v letních měsících) – 1 týden (7 x 24 h)

- Neratovice (**A**; 6 lokalit): chemický průmysl
- Uherskohradištsko (**B**; 8 lokalit): doprava, střední aglomerace, chemický průmysl
- Košetice (**REF**; referenční lokalita): zemědělská oblast bez významnějších zdrojů kontaminace

Sledované parametry extraktů z částicové i plynné frakce vzduchu

- PAH, PCB, pesticidy
- toxicita dioxinového typu, anti/estrogenita, anti/androgenita



Vzdušné polutanty

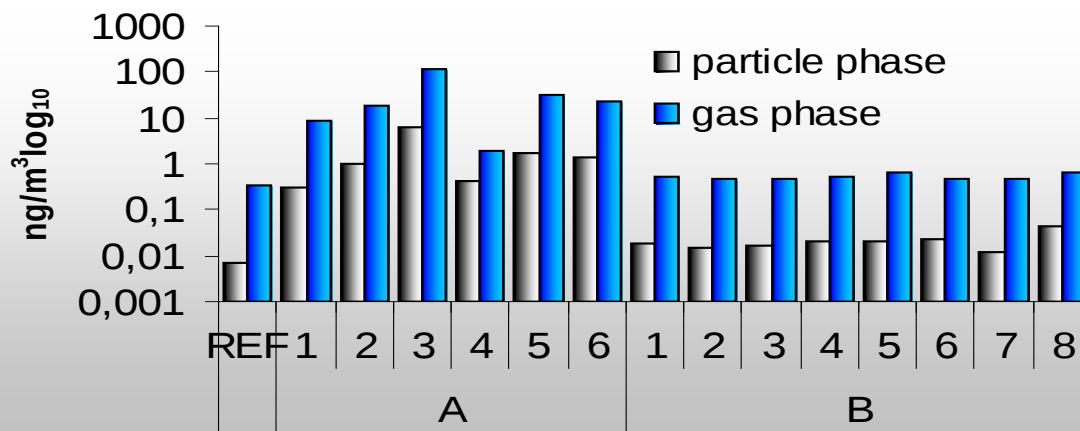
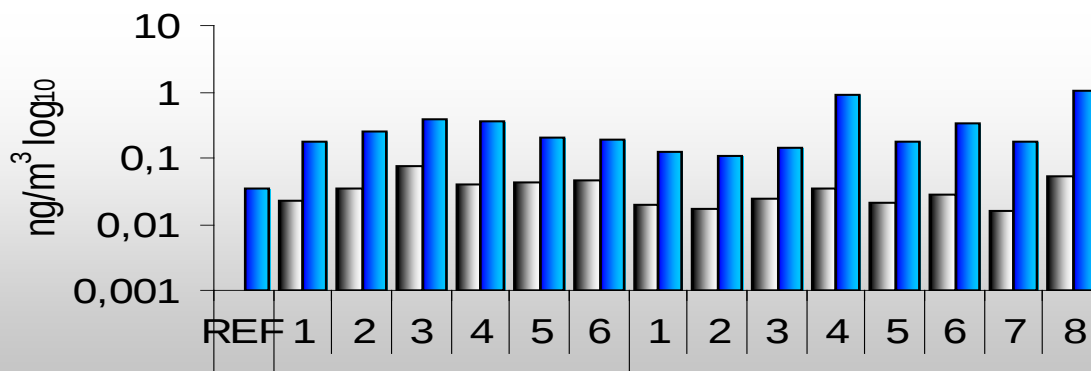
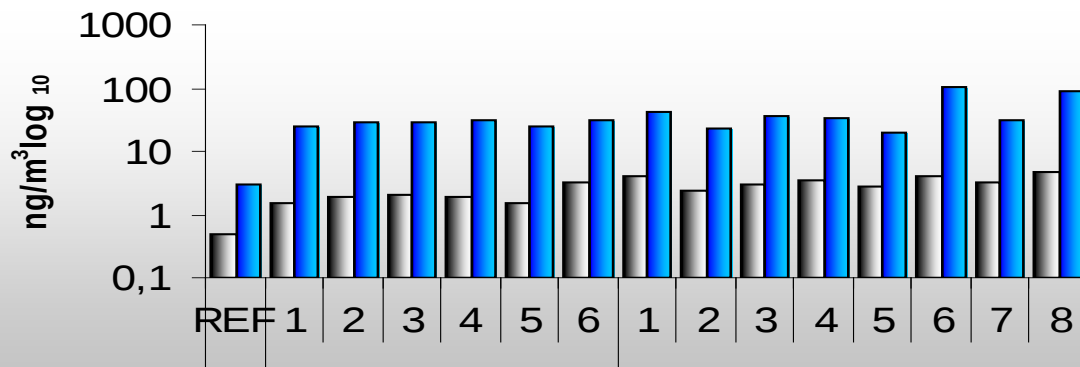
Chemické analýzy

Sledované polutanty více
v plynné fázi

Polycyklické
aromatické
uhlovodíky

Polychlorované
bifenyly

Organochlorové
pesticidy



Vzdušné polutanty

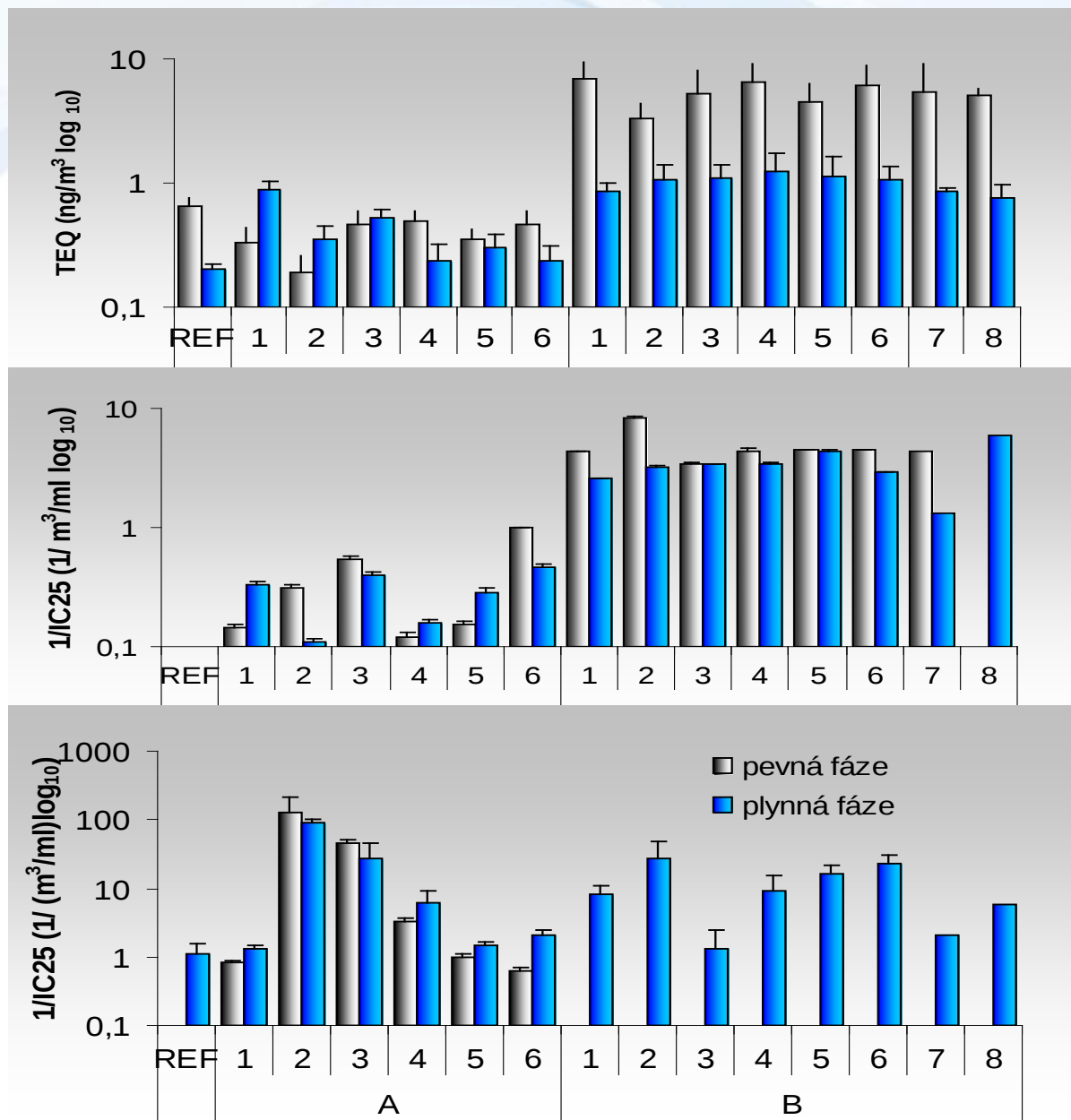
Biotesty

ED potenciál v plynné i
pevné fázi

Toxicita dioxinového
typu (AhR)

Antiestrogenita

Antiandrogenita



Shrnutí a závěry



EDC látky přítomny v různých složkách prostředí i v organismech

Mají různou chemickou strukturu a působí na velmi nízkých koncentracích –
obtížně chemicky stanovitelné

Mohou mít závažné důsledky pro volně žijící organismy, neboť přímo narušují
reprodukcí a tím i „evoluční kondici“

Charakterizace znečištění komplexních vzorků z prostředí:

Biologický a chemický přístup se doplňují - vhodné kombinovat

- Chemická analýza - zastoupení vybraných skupin polutantů
- Biotesty - informace o toxickém působení látek a jejich směsí
 - Aplikovatelné pro různé typy matric (environmentálních směsí)
 - Biotesty často poukážejí na přítomnost dalších bioaktivních látek
 - Účinkem řízená analýza – identifikace prioritních EDC

Poděkování

- kolegům z centra RECETOX, doktorandům a diplomantům
- spolupracovníkům z dalších institucí v ČR i v zahraničí

Děkuji za pozornost!

<http://www.recetox.muni.cz>

E-mail: hilscherova@recetox.muni.cz

MICHIGAN STATE
UNIVERSITY



solutions

MUNI | RECETOX