

# GENOTOXICITA LÉČIV

**Klára A. Mocová**

VŠCHT Praha  
Fakulta technologie ochrany prostředí  
Ústav chemie ochrany prostředí

*Centralizovaný rozvojový projekt MŠMT č. C29:  
„Integrovaný systém vzdělávání v oblasti výskytu a eliminace reziduí léčiv v životním prostředí“*



# Genotoxicita - klasifikace

- Mutagenese: vznik trvalých (dědičných) změn v genetické výbavě buňky (jedince), které se přenášejí do dalších generací
- Karcinogeneze (= Kancerogeneze): nádorové bujení, jemuž obvykle předchází změny na DNA nebo napadení virem; souvisí s nadměrným dělením buněk
- Teratogeneze: Vznik vady na vyvíjejícím se plodu (malformace, vrozené vady vnitřních orgánů)

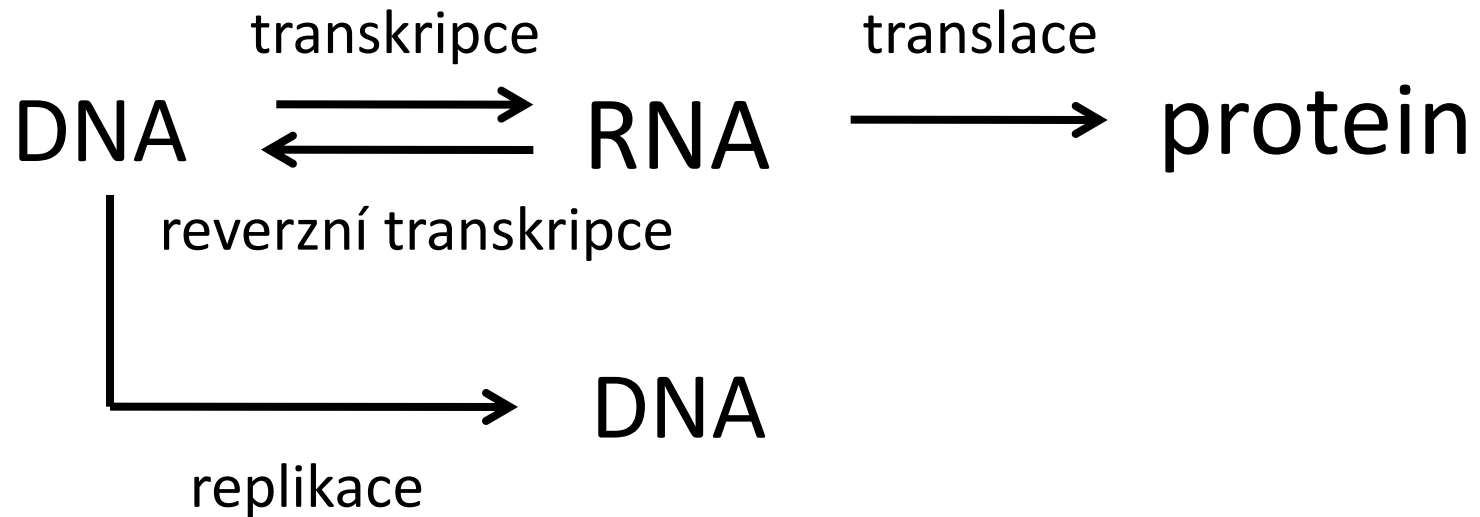
# Mutace

- trvalá (dědičná) změna v DNA
- dělení dle různých hledisek
- z pohledu působení mutagenů nejdůležitější dělení dle úrovně stavby DNA, na které mutace působí
  - změna v primární struktuře, tj. změna v sekvenci nukleotidů (genová mutace)
  - změna v prostorové struktuře, tj. změna ve tvaru chromosomů (chromosomální aberace)
  - změna v počtu DNA molekul v jádře buňky, tj. změna v počtu chromosomů (genomová mutace)

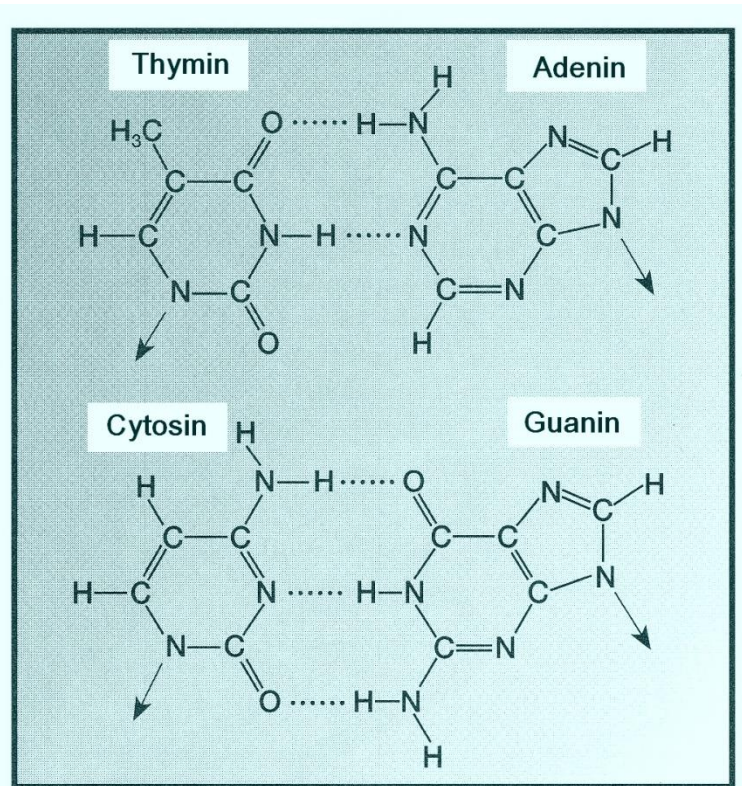
# Genové mutace

- Genové mutace jsou trvalé chyby v sekvenci nukleotidů v DNA (v genech)
- Pro jejich pochopení je nutné znát obecnou strukturu genu a jejich produktů, tj. strukturu DNA, mRNA a proteinů, párování bazí v nukleotidech, genetický kód, proteosyntézu a jaderné dělení (především replikaci)
- Příklad: srpkovitá anémie, cystická fibróza

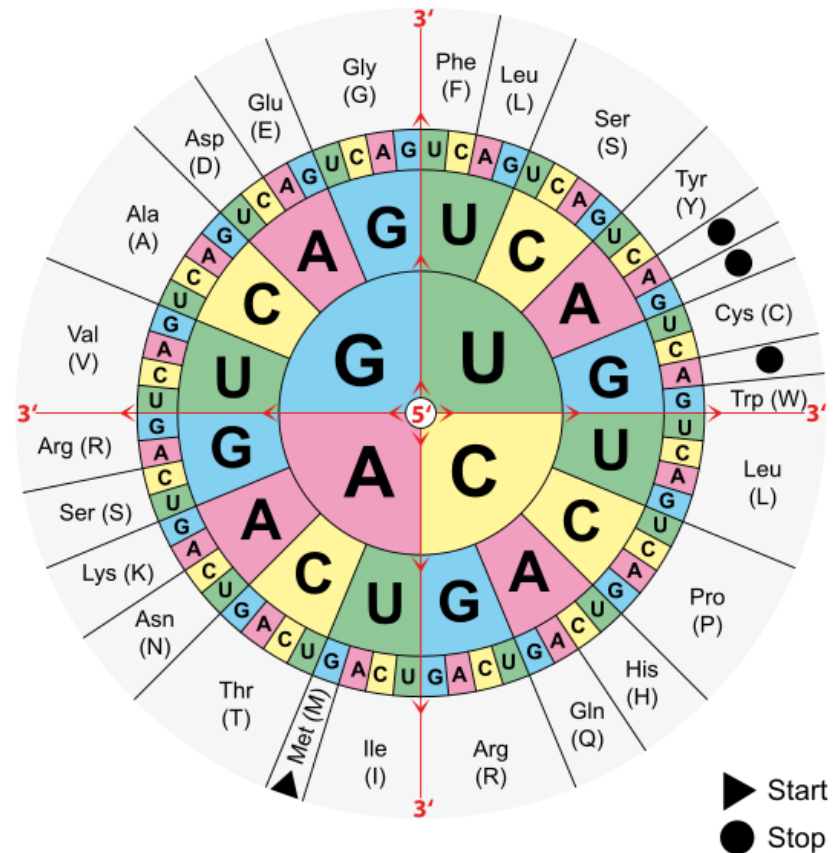
# Centrální dogma molekulární biologie



# Párování bází v DNA, genetický kód

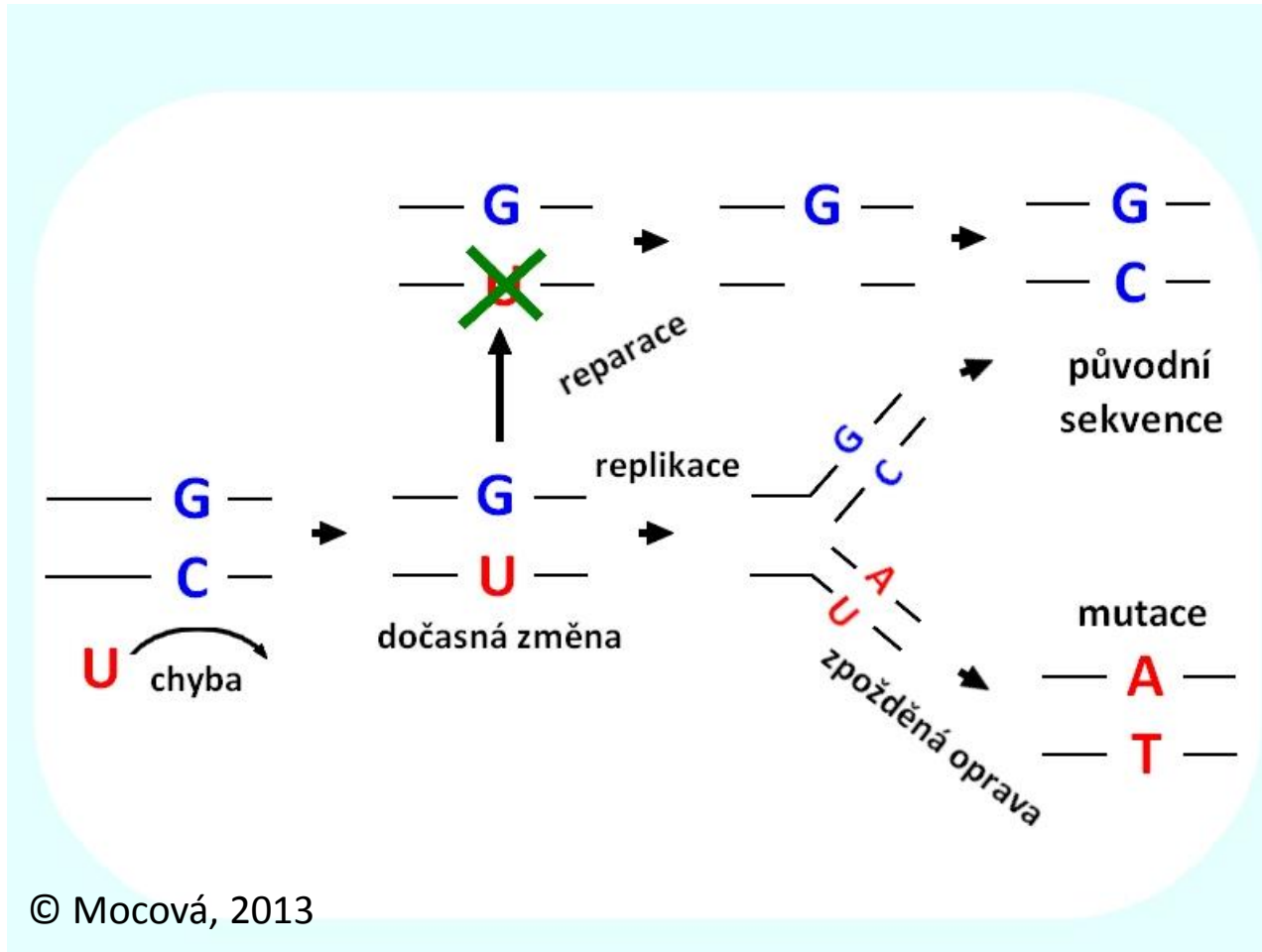


Podle: Kimball, J.W.: Biology, WCB Publishers, Dubuque, Melbourne, Oxford, 1994.



Zdroj: [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

# Substituční genová mutace



© Mocová, 2013

# Genové (bodové) mutace

- Divoká alela (původní forma genu)

M D D Q S M R L Q T L A G V L N  
atg gac gat caa tcc agg atg ctg cag act ctg gcc ggg gtg aac ctg...

- Neutrální mutace (Samesense mutace, 3. báze)

M D D Q S M R L Q T L A G V L N  
atg gac gat caa tcc agg atg ctg caa act ctg gcc ggg gtg aac ctg...

- Missense mutace

M D D Q S M R L K T L A G V L N  
atg gac gat caa tcc agg atg ctg aag act ctg gcc ggg gtg aac ctg...

- Nonsense mutace

M D D Q S M R L stop  
atg gac gat caa tcc agg atg ctg tag act ctg gcc ggg gtg aac ctg...

- Posun čtecího rámce vedoucí k předčasné terminaci proteosyntézy

M D D Q S M R L R L W P G stop  
atg gac gat caa tcc agg atg ctg aga ctc tgg ccg ggg tga acc tg...



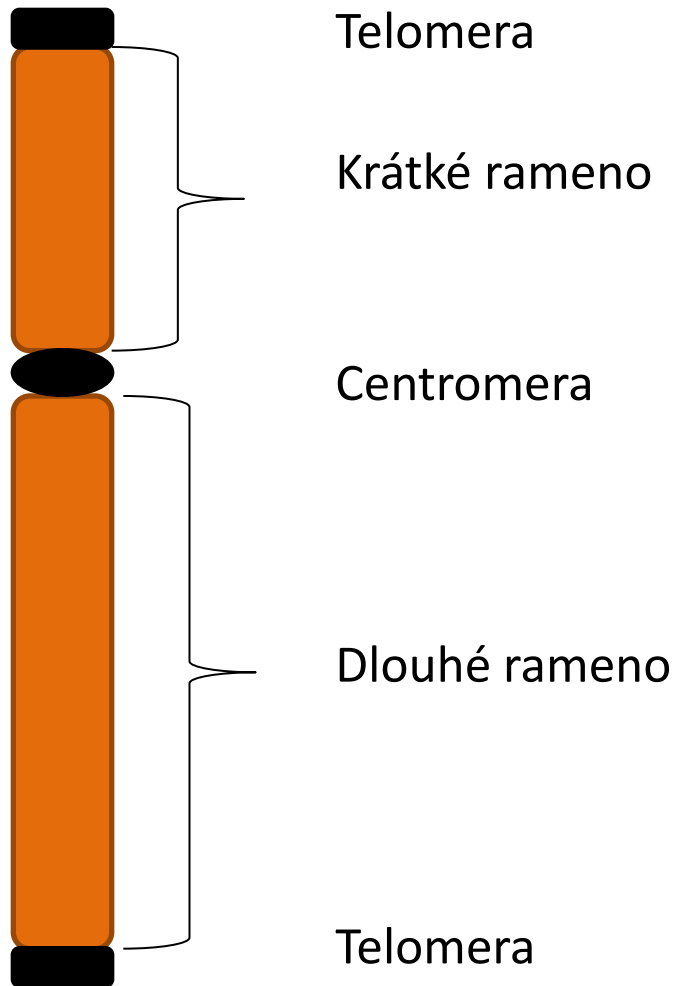
# Genové mutace - klasifikace

Bodová mutace = změna v nukleotidové sekvenci genu

- Substituční mutace (záměna původního NT za jiný)
  - samesense ... beze změny AMK sekvence (neutrální)
  - missense ... vznik kodónu pro jinou AMK
  - nonsense ... vznik stop kodónu
- Posunové mutace – delece či inzerce NT (počet není násobkem 3 NT). Výsledkem je změna celého úseku genu od místa bodové mutace. Často vznik stop kodónu uvnitř posunuté sekvence (zkrácení proteinu)

Vysvětlivky: AMK...aminokyselina, NT...nukleotid

# Struktura eukaryotního chromosomu



## Poziční efekt

### heterochromatinu:

Centromera a telomery

jsou tvořeny kondenzovaným chromatinem

**(heterochromatin)**. V tomto místě nejsou geny a případné geny v přilehlých oblastech heterochromatinu nejsou (příliš) geneticky aktivní

# Chromosomální aberace, klastogeny

- Chromosomální aberace (mutace) = strukturní změna na chromosomu, jíž předchází 1 - 2 zlomy na chromosomu
- Vzniklý fragment chromosomu se následně ztratí (delece) nebo přemístí a opět připojí na jiném než původním místě chromosomu či v jiné orientaci (translokace, inverze)
- **Klastogeny** – látky způsobující zlomy na chromosomech (klastogenezi)
- Chromosomální aberace jsou často jednou z podmínek vzniku nádorových onemocnění

# Chromosomální aberace - klasifikace

- Delece – ztráta úseku chromosomu
- Duplikace – zdvojení úseku chromosomu
- Inverze – převrácení úseku chromosomu
- Translokace – přesun úseku chromosomu na jiný chromosom
  - a) prostá – přesun pouze z jednoho na jiný chromosom
  - b) reciproká – vzájemná výměna mezi dvěma chromosomy; zvláštní případ je Robertsonova translokace (= centrická fúze dvou akrocentrických chromosomů)

# Lidské chromosomy: karyotyp muže (46,XY)



Zdroj: <http://www.genome.gov/glossary/resources/karyotype.pdf>

# Genomové mutace - klasifikace

Ploidie – počet chromosomových sad

1) Euploidie – změna počtu celých chromosomových sad:

haploidie (1), diploidie (2), triploidie (3),

tetraploidie (4) atd.

2) Aneuploidie – změna počtu jednotlivých chromosomů:

nulisomie (0), monosomie (1)

disomie (2, oba chromosomy však pocházejí od stejného rodiče =  
chyba !!!)

trisomie (3), tetrasomie (4) atd.

# Karcinogeneze

- Rakovinné bujení
- Karcinogeneze = Kancerogeneze (2 možné názvy)  
*karkinos* (řec.) - rak; *gennan* (řec.) – tvořit  
*cancer* (lat.) – rak  
*onkos* (řec.) – krab  
název zřejmě od tvaru karcinomu prsu připomínající  
raka nebo kraba (výběžky z centrálního ložiska)
- Karcinogeny – faktory způsobující karcinogenní účinky
- K nádorovému bujení stačí jediná rakovinná buňka! – ta se dále dělí – vzniká klon (geneticky identické buňky)

# Nádorová buňka

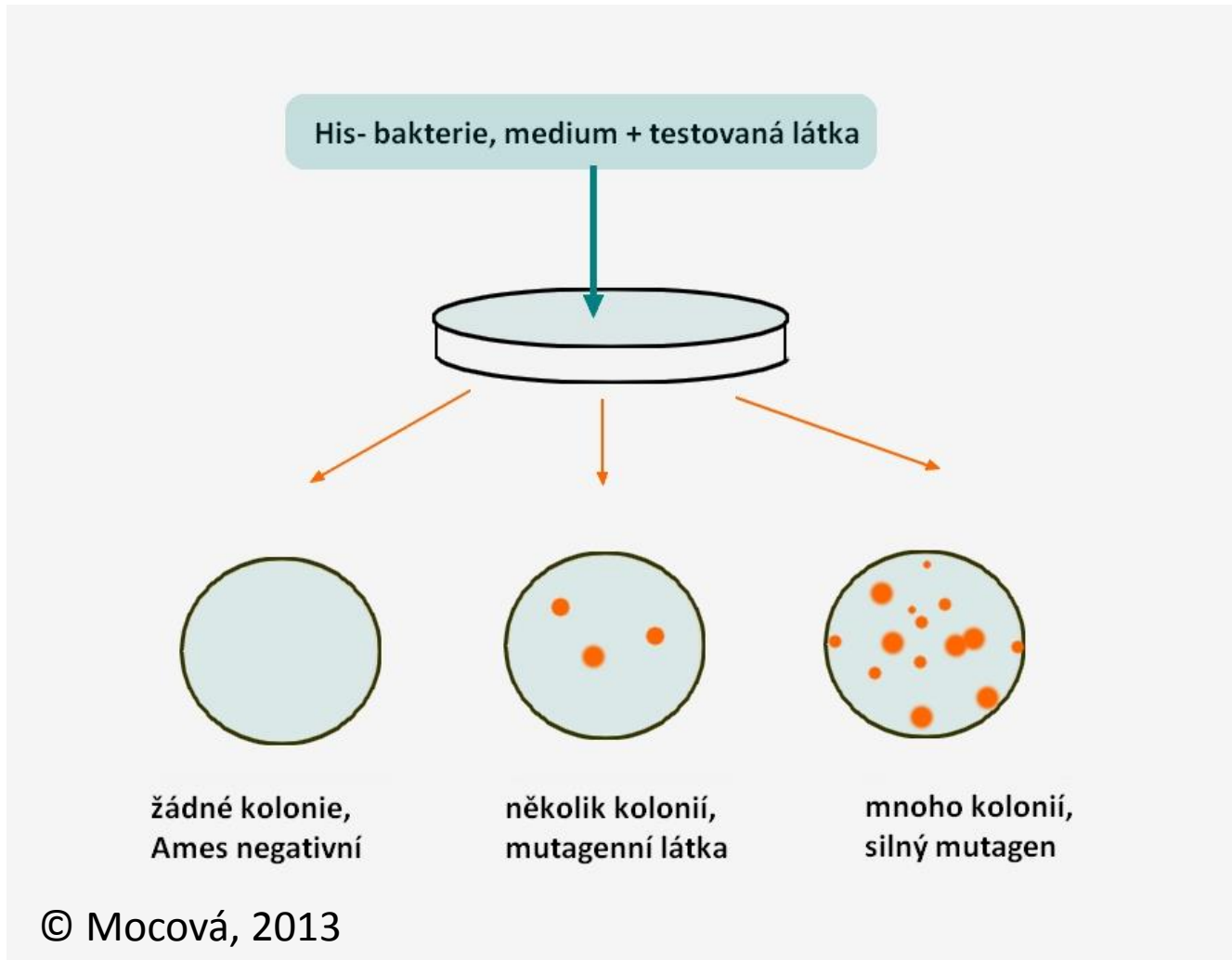
- ztrácí diferenciaci, změna tvaru buňky  
(diferenciace = specializace buňky k určité funkci, určitá struktura a obsah buňky)
- neomezeně se dělí  
(normální buňka se dělí maximálně 50krát, výjimky: embryonální a kmenové buňky – dělí se vícekrát)
- ovlivňuje okolní buňky – patologické množení
- změny v metabolismu, v karyotypu (DNA - chromosomy)
- změny v antigenech na povrchu buňky – imunitní systém je proti nádorovým buňkám téměř bezmocný



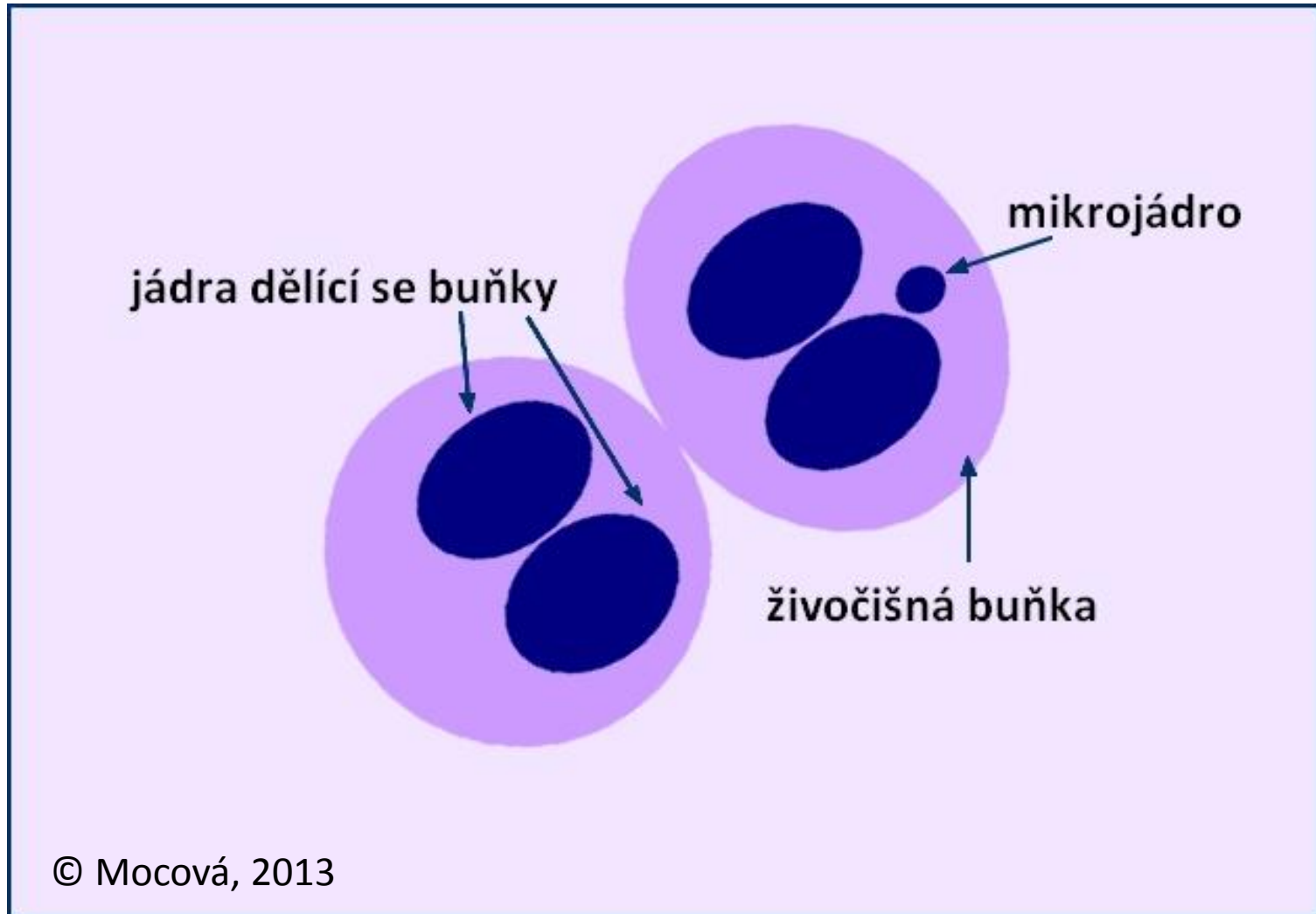
# Teratogeneze

- Vznik poškození u plodu: malformace = znetvořené orgány, vrozené vývojové vady (VVV)
- Př. malformace – polydaktylie (mnoho prstů),  
– rozštěp rtu
- Faktory způsobující malformace = teratogeny
- Teratogeny chemické (rozpouštědla, léky...),  
fyzikální (RTG záření, vysoká teplota u člověka)  
i biologické (choroby – viry, toxoplasmosa)
- Potencionálními teratogeny mohou být i mutagenní látky  
(např. těžké kovy)

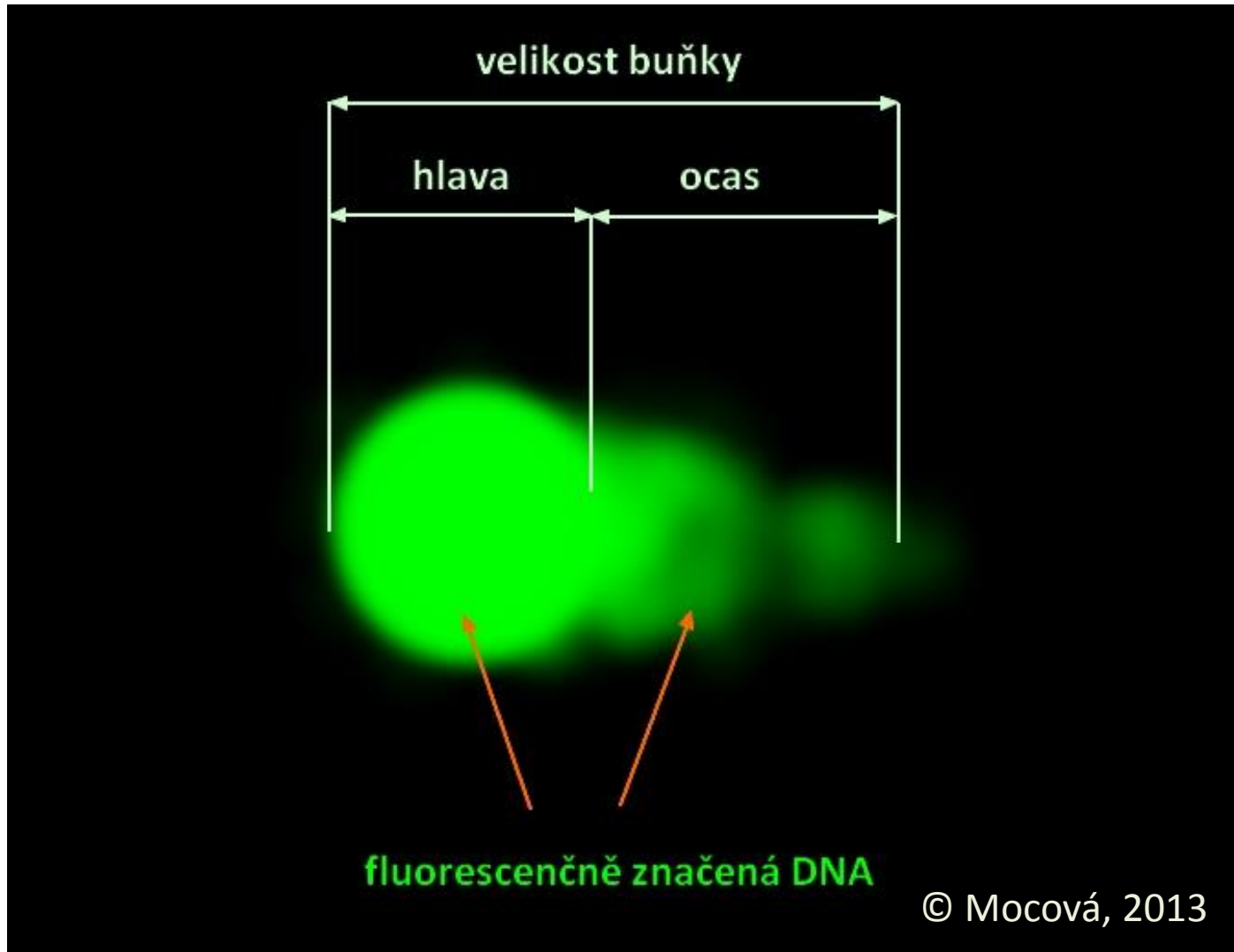
# Amesův test



# Mikrojaderný test



# Kometový test



# Vybrané testy genotoxicity

- Amesův test - bakterie *Salmonella typhimurium*; genové mutace
- Mikrojaderné testy – myš, tkáňové kultury z čínského křečka; fragmentace chromosomů; mikroskopie
- Kometový test (Comet assay) – buňky, fragmentace DNA, elektroforéza
- Test karcinogenity na hlodavcích (myš, potkan)
- Whole-Embryo Culture test (WEC) - potkaní nebo myší embrya, morfologické znaky a malformace
- FETAX –žába druhu *Xenopus laevis* L., úhyn vajíček a malformace embryí

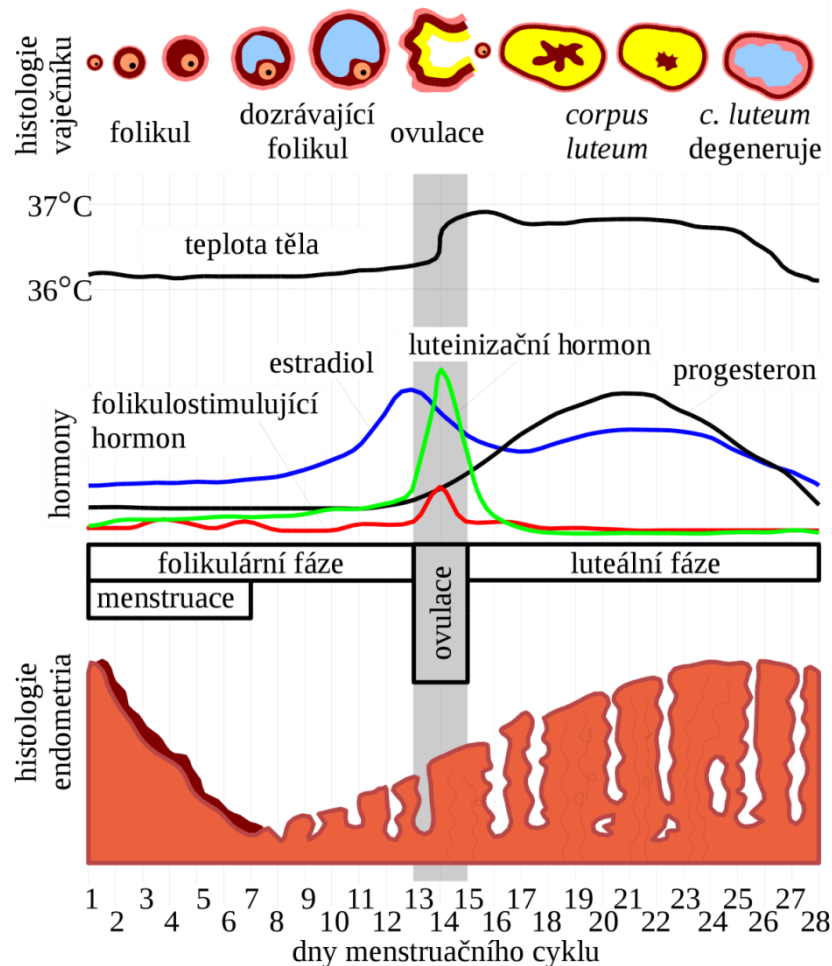
# Genotoxická léčiva - příklady

- Thalidomid (syn.: Kontergan, Isomin, Proban; teratogen)
- Estrogeny v hormonální substituční terapii (karcinogeny)
- Léky na hypertenzi (komutageny)
- Cyklofosfamid (cytostatikum při léčbě nádorů, při transplantacích – působí jako klastogen, je třeba vyvážit další látkou)

# Estrogeny

- Přirozené a syntetické steroidní hormony u žen
- Přirozené: estron, estriol, estradiol
- Syntetické: např. equilin, diethylstilbestrol
- Od 20. století se výrazně zvyšuje expozice žen vůči přirozeným estrogenům
- Od r. 1940 preparáty se syntetickými hormony pro ženy (USA), hormonální terapie v období menopauzy
- U estrogenů zjištěny genotoxické účinky (zejména karcinogenní)

# Estrogen v menstruačním cyklu



(Průměrné hodnoty. Průběh a hodnoty se mohou lišit u různých žen nebo u různých cyklů.)

estradiol (estrogen vyskytující se během menstruace) značen modrou křivkou; přítomen v průběhu celého menstruačního cyklu

[www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

Autor: Chris 73



# Diethylstilbestrol (DES)

- syntetický estrogen (1938, USA)
- podáván na ženské obtíže – např. menopauza
- u těhotných žen se doporučoval jako prevence spontánních potratů
- po narození děti zcela bez viditelných potíží
- problémy u dětí až v období dospívání – abnormality pohlavních orgánů a nádory pohlavních orgánů u obou pohlaví
- potíže dokonce ještě ve 3. generaci (vnučky matek, které užívaly DES)
- problémy u žen – matek – mnohem méně často

# Antioxidanty

- Opatrnost při užívání antioxidantů platí obecně
- Rizikovou látkou je také kyselina listová, která je sice potřebná (vznik červených krvinek, dělení buněk, správný vývoj lidského plodu...), ale zároveň její nadužívání podporuje vznik rakoviny tlustého střeva, recta i dalších
- O mnohých antioxidantech není známo, jak působí ve směsích s mutageny – mohou fungovat jako tzv. komutageny
- Komutageny – látky samy o sobě nepůsobící mutagenně, avšak ve spojení s mutagenní látkou zvyšují sílu mutageneze