

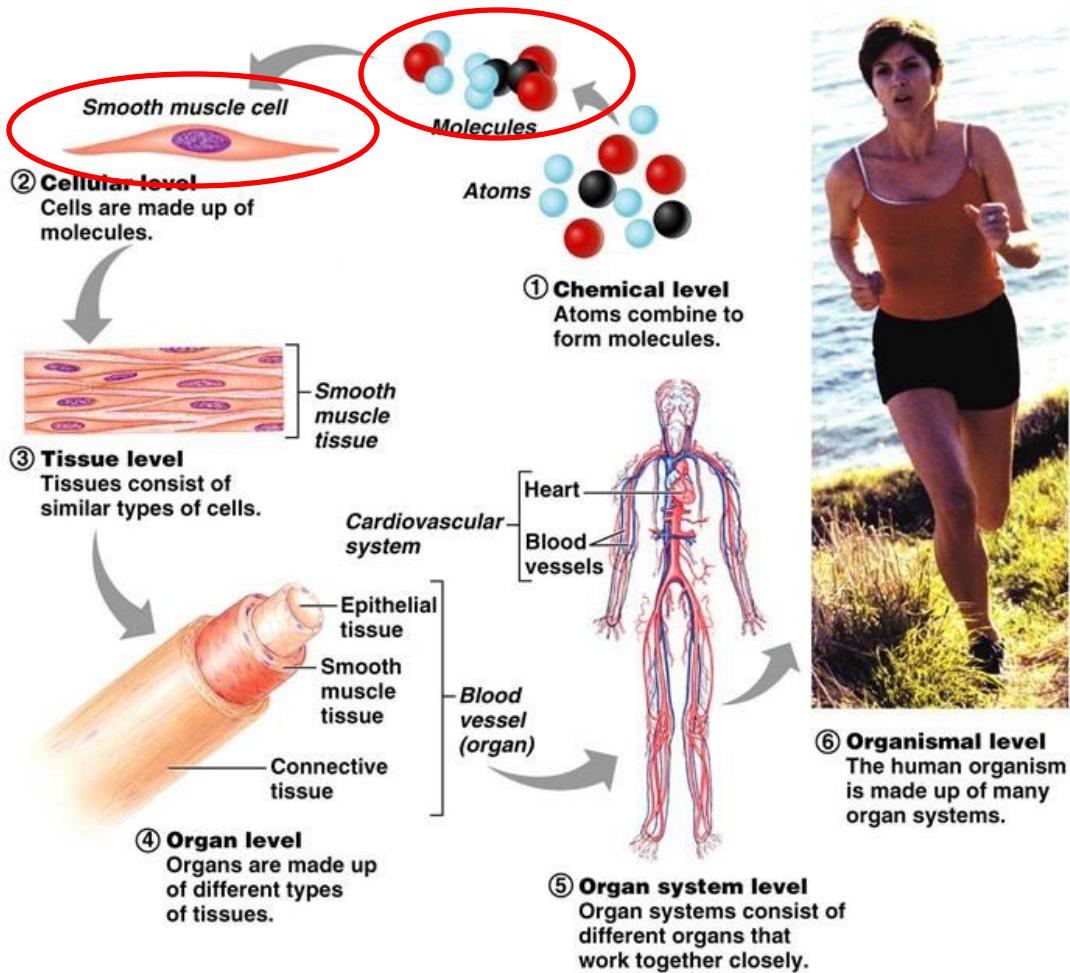
Adaptace lidského organismu na nepříznivé vlivy znečištěného ovzduší?

RNDr. Pavel Rössner, Jr., PhD.

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.

prossner@biomed.cas.cz

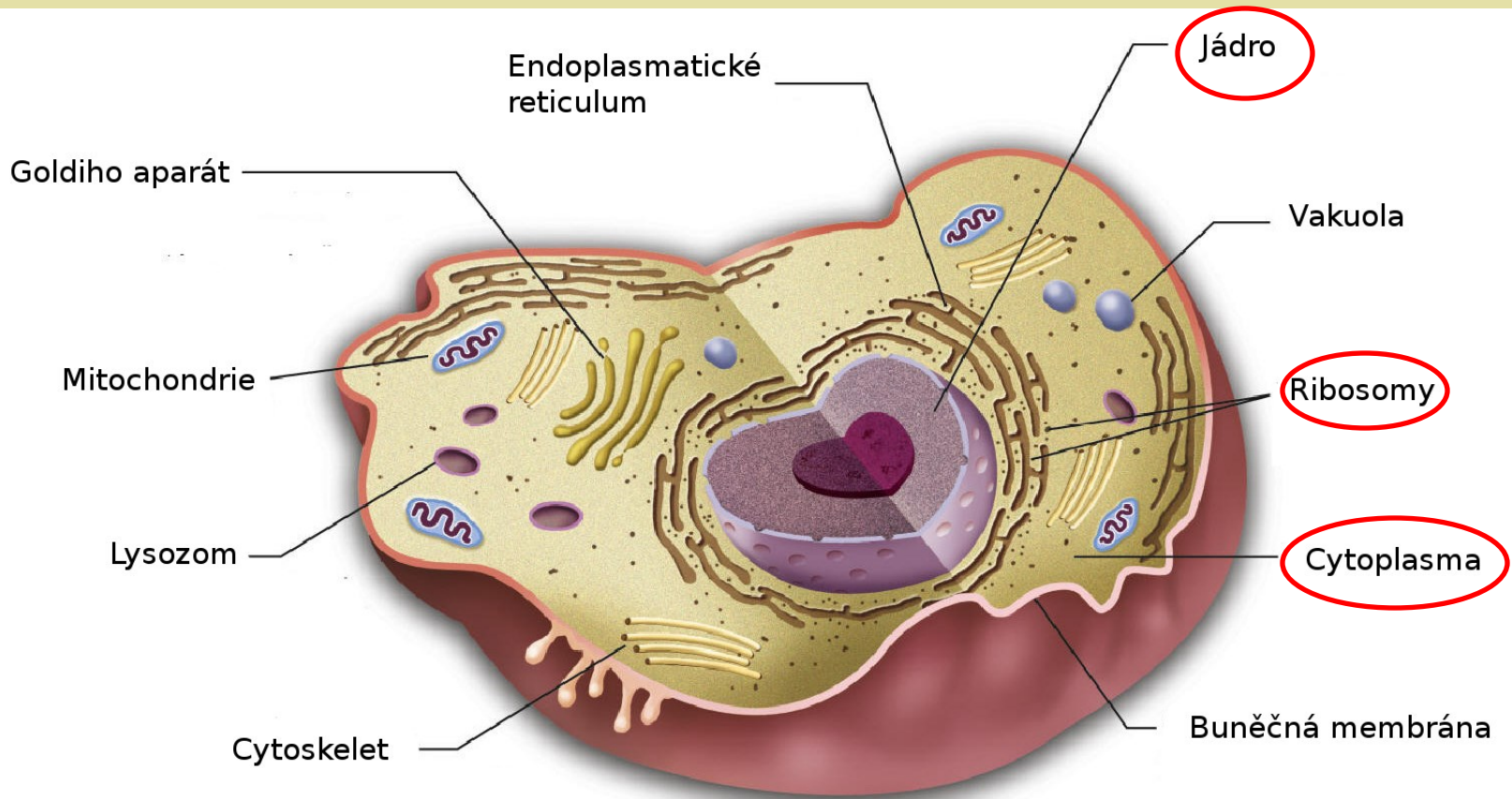
Organizace lidského těla



Molekuly:

DNA - složena z bází; bílkoviny (proteiny) - složeny z aminokyselin

Lidská buňka

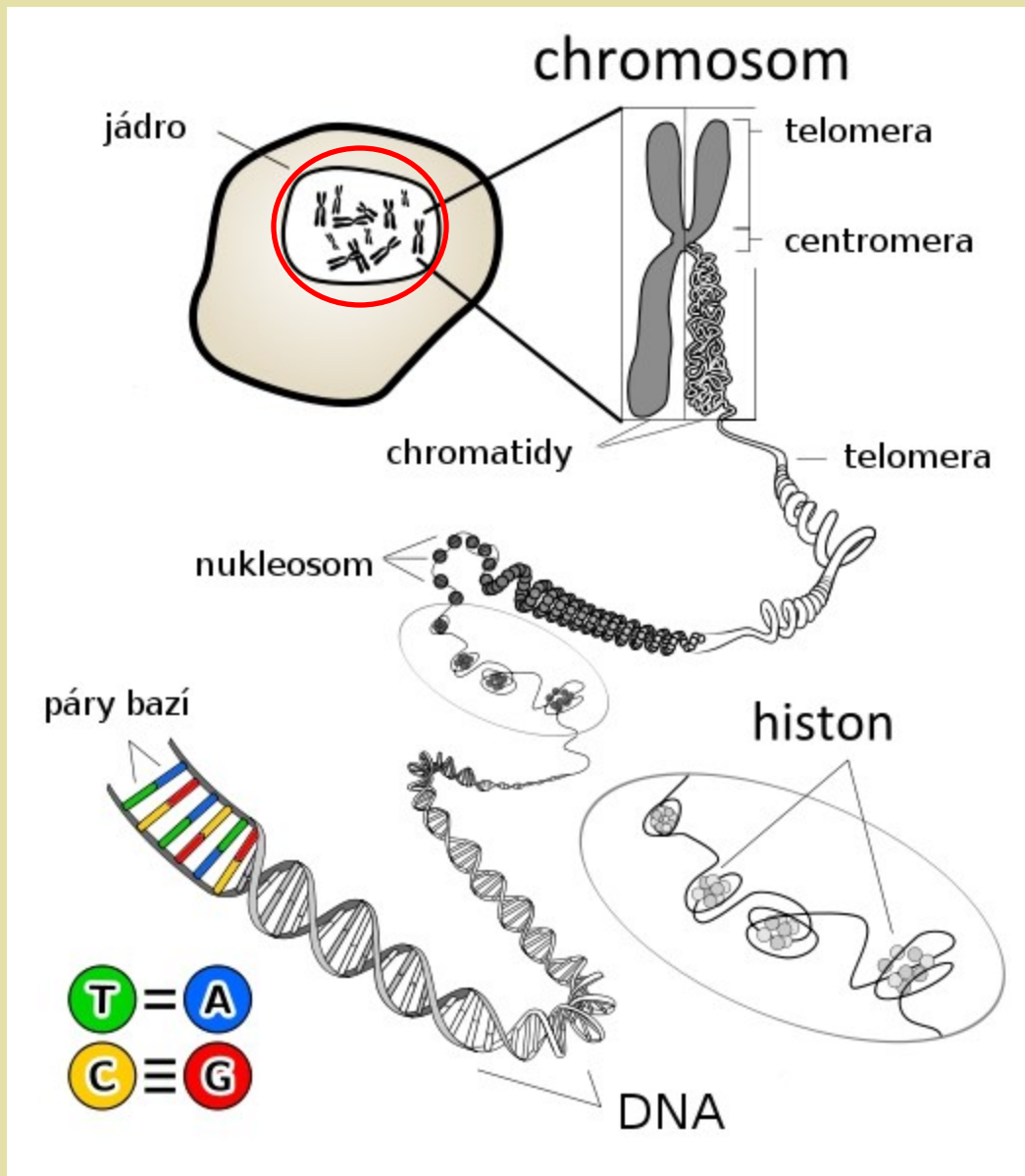


Fakta o buňkách:

Rozměry buňky: 10 μm (setina mm), hmotnost buňky: 1 ng (miliardtina gramu)

Počet buněk v lidském těle: 100 bilionů (100×10^{12})

Genetická informace - DNA



Fakta o DNA:

Délka chromosomu: 5 μm

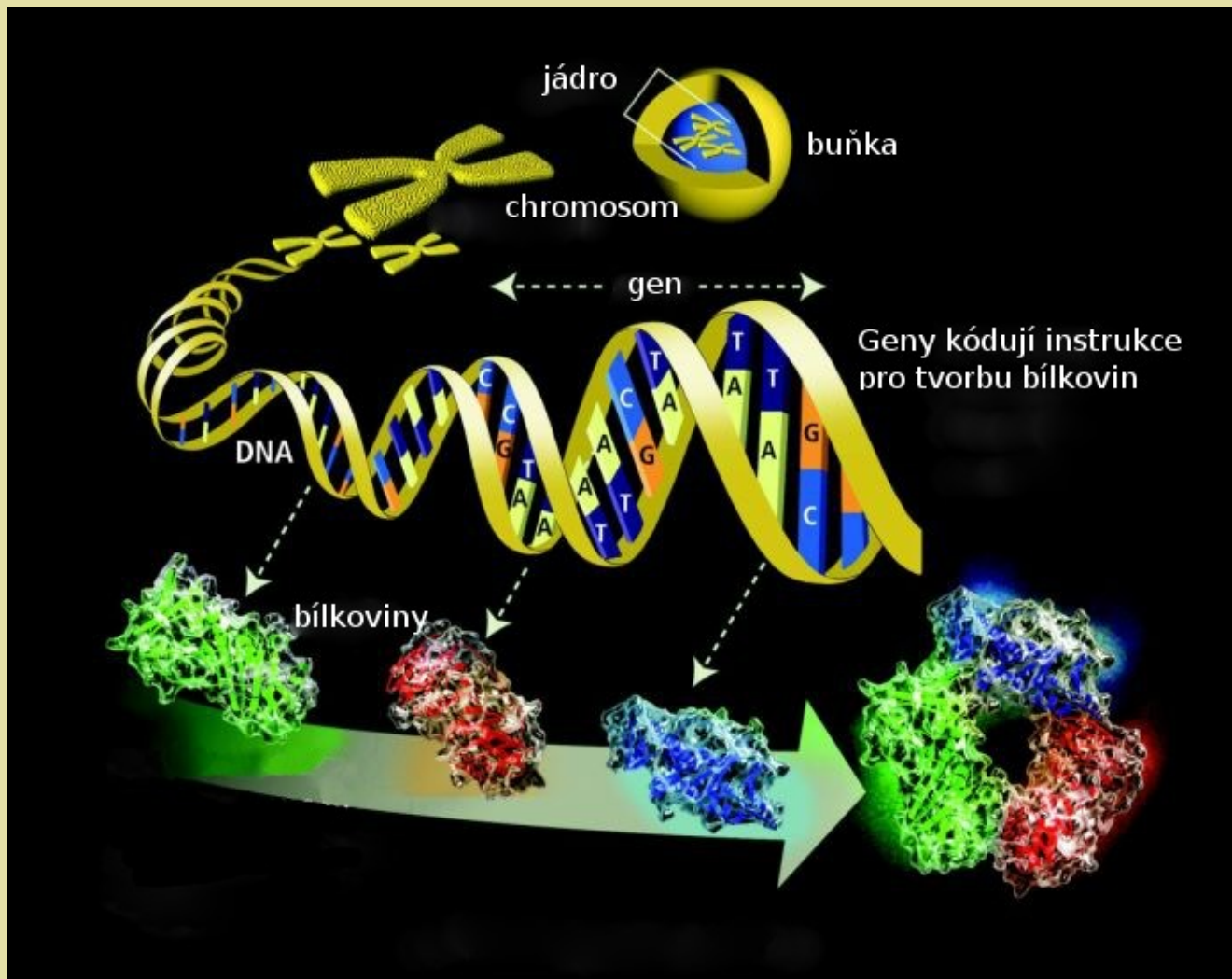
Délka DNA v buňce: 1.8 m

Počet bází v DNA: 3 miliardy

Počet chromozomů: 23 párů

Celková délka DNA ve všech
buňkách těla: 180 miliard km

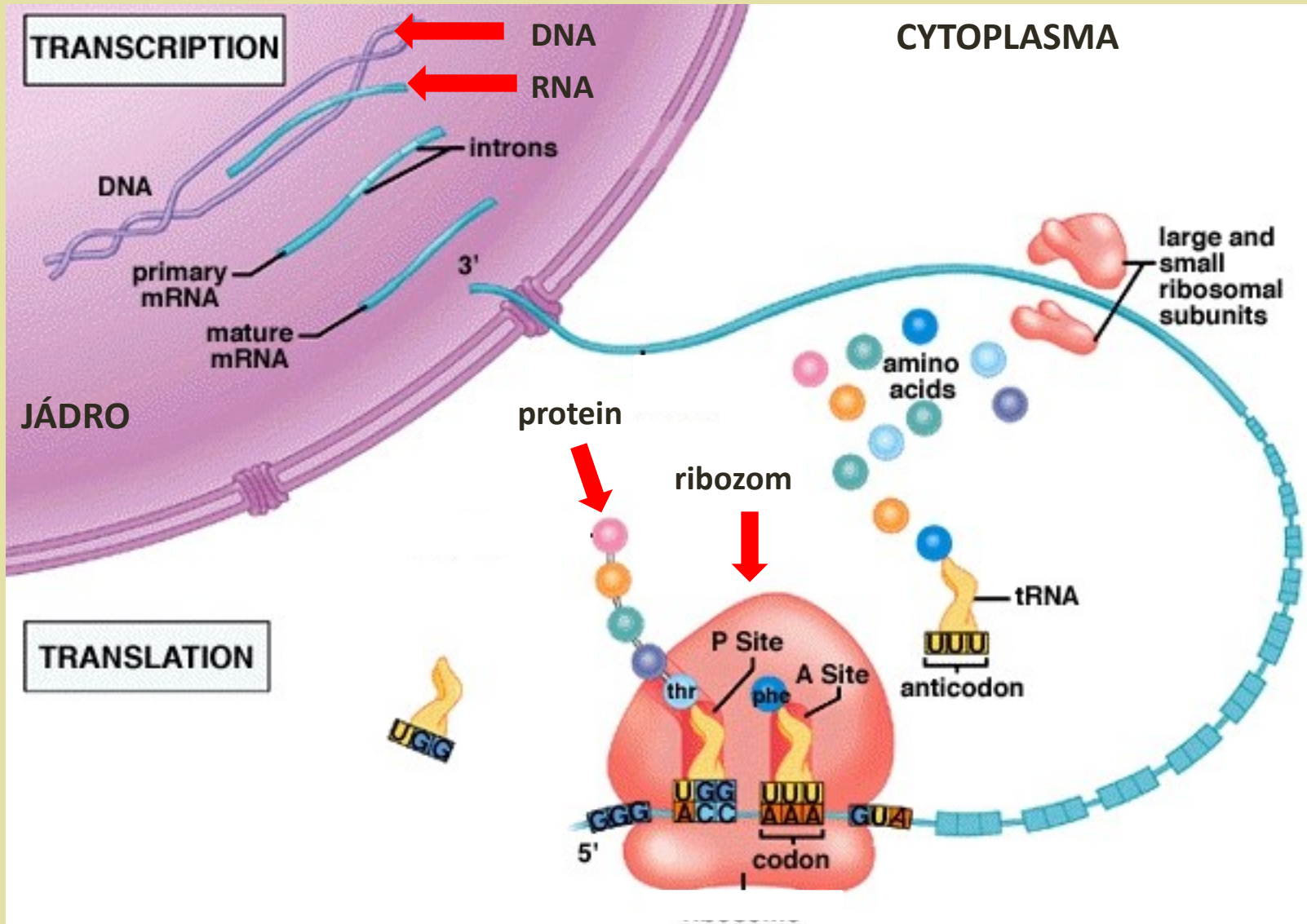
Geny kódují strukturu a funkci bílkovin



Fakta o DNA:

Počet genů pro proteiny: ~ 25 000 (1.5% genomu); všichni lidé mají stejné geny, odchylky mohou být v jednotlivých bázích a regulaci genové exprese

Realizace genetické informace - genová exprese



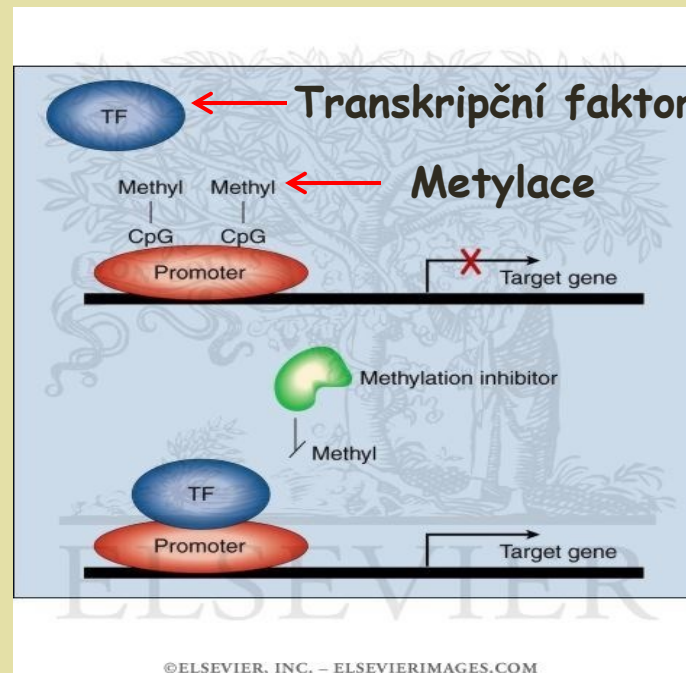
Regulace genové exprese

Změna v oblasti DNA zvané **promotor** vedoucí k zapnutí, nebo vypnutí genové exprese.

Možnosti:

vazba bílkovin zvaných **transkripční faktory**

přítomnost metylové skupiny ($-\text{CH}_3$) - **metylace DNA**



Metylové skupiny fungují jako drobné vypínače

Vliv životního prostředí na člověka - biomarkery

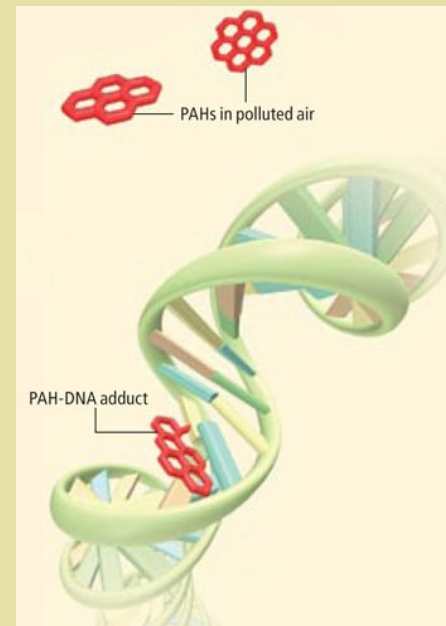
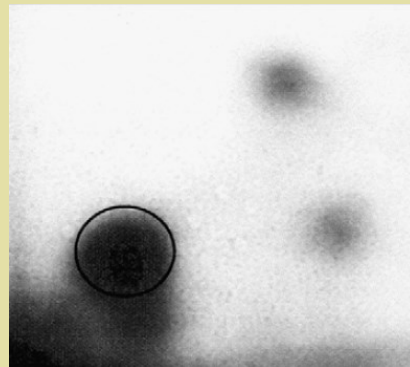


Biomarker

měřitelný biologický parametr odrážející změny v organismu vyvolané prostředím, nemocemi...

Příklady:

adukty DNA

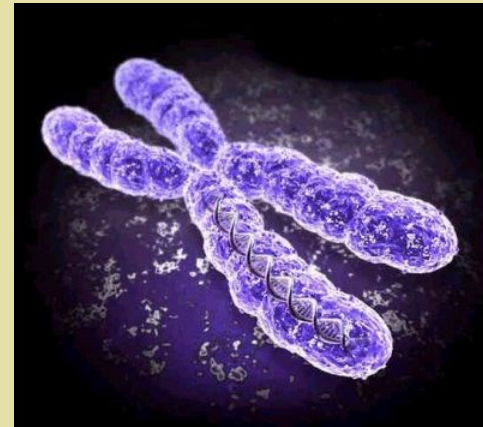


Vliv životního prostředí na člověka - biomarkery

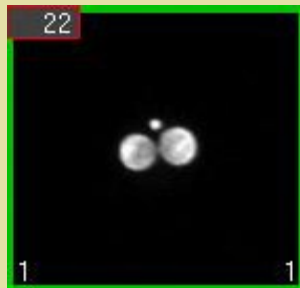
Příklady:



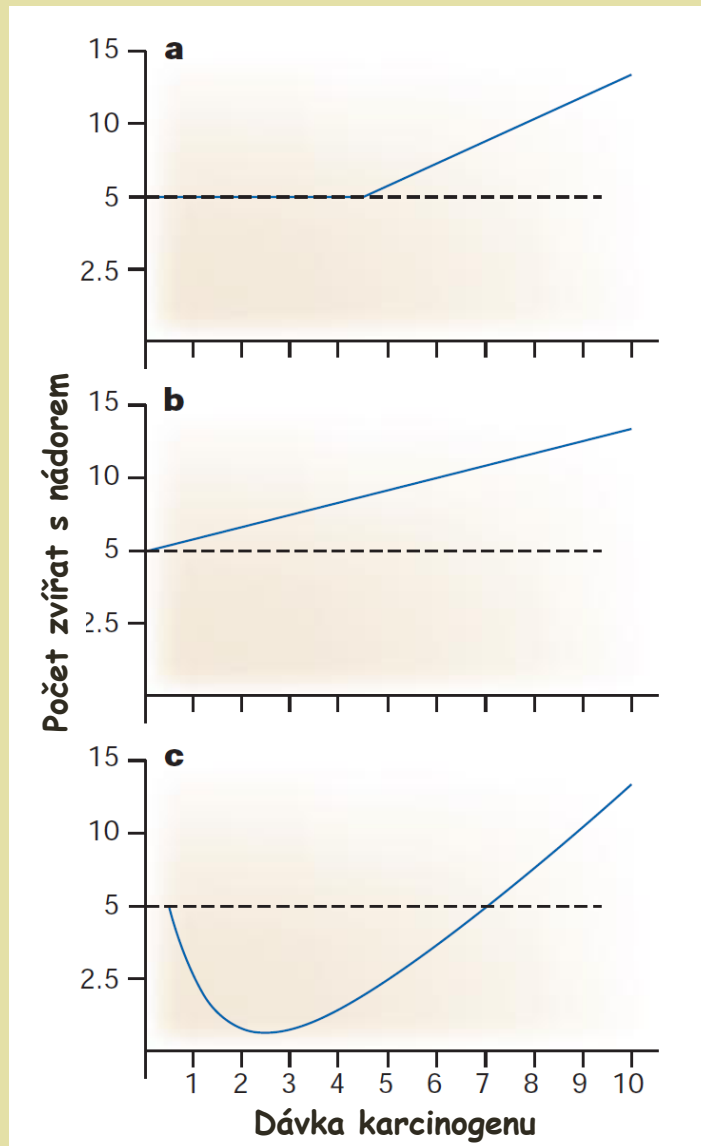
chromozomální aberace



mikrojádra



Možné vztahy mezi dávkou a účinkem

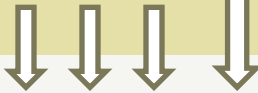


← Prahová závislost

← Lineární bezprahová závislost

← Hormeze

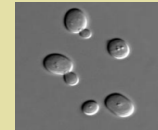
Co je adaptivní odpověď?



Organismy, u nichž byla adaptivní odpověď zjištěna

Jednobuněčné organismy: bakterie (*E.coli*, *V. cholerea*)

kvasinky (*S. cerevisiae*)



Mnohobuněčné organismy:

rostliny



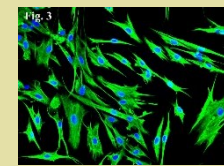
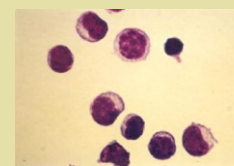
hmyz



měkkýši



ryby



savčí buňky – lidské lymfocyty, fibroblasty, křeččí buňky

Adaptivní odpověď po působení záření

Ptáci žijící v oblasti kolem jaderné elektrárny Černobyl nejsou negativně postiženi vlivem chronického působení radiace v důsledku zvýšených hladin glutathionu, který chrání proti oxidačnímu poškození způsobeným zářením.

Received Date : 17-Jan-2014

Revised Date : 09-Apr-2014

Accepted Date : 16-Apr-2014

Article type : Standard Paper

Editor : Jonathan Blount

Section : Animal Physiological Ecology

Chronic exposure to low-dose radiation at Chernobyl favors adaptation to oxidative stress in birds

Ismael Galván^{1,*†}, Andrea Bonisoli-Alquati², Shanna Jenkinson², Ghanem Ghanem³, Kazumasa Wakamatsu⁴, Timothy A. Mousseau² and Anders P. Møller¹

¹Laboratoire d'Ecologie, Systématique et Evolution, CNRS UMR 8079, Université Paris-Sud 11, Bâtiment 362, 91405 Orsay Cedex, France; ²Department of Biological Sciences, University of South Carolina, Columbia, SC 29208, USA; ³Laboratoire d'Oncologie et de Chirurgie Expérimentale (L.O.C.E.), Institut Jules Bordet, Université Libre de Bruxelles, rue Héger-Bordet 1, 1000 Bruxelles, Belgium; ⁴Department of Chemistry, Fujita Health University School of Health Sciences, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan



Adaptivní odpověď vyvolaná PCB

Řeka Hudson byla v letech 1947-1976 znečištěna téměř 600 tunami PCB.

Treska *Microgadus tomcod* žijící v řece se stala odolnou k působení PCB.

Mechanismu rezistence: U ryb došlo k mutaci v genu *AHR2*, která zajistila odolnost k PCB a odolní jedinci v řece převládli.

Příklad rychlé evoluce.

REPORTS

Mechanistic Basis of Resistance to PCBs in Atlantic Tomcod from the Hudson River

Isaac Wirgin,^{1*} Nirmal K. Roy,¹ Matthew Loftus,¹ R. Christopher Chambers,² Diana G. Franks,³ Mark E. Hahn³

The mechanistic basis of resistance of vertebrate populations to contaminants, including Atlantic tomcod from the Hudson River (HR) to polychlorinated biphenyls (PCBs), is unknown. HR tomcod exhibited variants in the aryl hydrocarbon receptor 2 (AHR2) that were nearly absent elsewhere. In ligand-binding assays, AHR2-1 protein (common in the HR) was impaired as compared to widespread AHR2-2 in binding TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin) and in driving expression in reporter gene assays in AHR-deficient cells treated with TCDD or PCB126. We identified a six-base deletion in AHR2 as the basis of resistance and suggest that the HR population has undergone rapid evolution, probably due to contaminant exposure. This mechanistic basis of resistance in a vertebrate population provides evidence of evolutionary change due to selective pressure at a single locus.

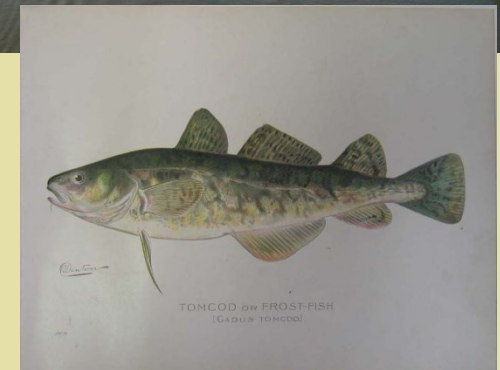
From 1947 to 1976, two General Electric facilities 315 km upstream of the mouth of the Hudson River (HR) released 590,000 kg of polychlorinated biphenyls (PCBs) into the river. Atlantic tomcod *Microgadus tomcod* is an abundant, bottom-dwelling, and resident finfish of the HR (1). Levels of PCBs and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/furans (PCDD/Fs) [including the

most toxic congener, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)] in tomcod livers from the HR and Hackensack River in the western HR estuary are among the highest known in nature (2). Most toxicities from halogenated aromatic hydrocarbons (HAHs) such as PCBs and PCDD/Fs and induction of xenobiotic metabolizing enzymes such as cytochrome P4501A (CYP1A) are mediated by the aryl hydrocarbon receptor (AHR) (3). The pathway is activated when ligands bind cytoplasmic AHR at its ligand-binding domain (LBD), and the AHR-ligand complex translocates to the nucleus, where it binds dioxin response elements in the promoter of genes such as CYP1A and activates their transcription. There are two AHRs in fishes (4), of which AHR2 is the more functionally active (5). CYP1A expres-

sion is 100-fold less sensitive to induction by PCBs and TCDD in all tissues (6, 7) and life stages of tomcod (1) from throughout the HR (8) as compared to tomcod from cleaner locales. Decreased inducibility is heritable to at least the F₂ generation, is co-dominant (fig. S1), and co-occurs with a 100-fold reduction in the sensitivity of HR tomcod to early-life stage toxicities (1).

We characterized full-length AHR2 cDNAs by sequencing overlapping AHR2 amplicons in 10 tomcod from each of three locales: the HR and two reference locales, one distant from [the Miramichi River (MR) in New Brunswick, Canada] and one proximal to [Shinnecock Bay (SB) in New York] the HR. Four of five polymorphisms that were observed showed fixed differences between tomcod from the HR and the other locales. These were two synonymous base substitutions; one nonsynonymous base substitution [nucleotide (nt) 3274 in exon 11: A (Asn) in the HR; T (Tyr) in SB and the MR]; and a six-nt deletion (nts 1314 to 1319 in exon 10; TTCCTC) in HR fish that resulted in a two-amino acid (Phe-Leu) deletion located 43 amino acids downstream of the amino terminal of the AHR2 LBD.

We screened for the AHR2 deletion and the nt 3274 base substitution in tomcod from larger collections ($n = 31$ to 62 specimens per site) from seven Atlantic Coast estuaries ranging from the HR to the St. Lawrence (Fig. 1, A and B). The AHR2-1 allele [with the 6-base pair (bp) deletion and nt 3274 substitution] was detected only in tomcod from the four southernmost populations [frequencies were as follows: 99% in the HR; 92% in the Hackensack River, New Jersey (western HR estuary); 6% in the Niantic River, Connecticut; and 5% in SB]. Populations more distant from



¹Department of Environmental Medicine, New York University School of Medicine, 57 Old Forge Road, Tuxedo, NY 10987, USA. ²Howard Marine Sciences Laboratory, Northeast Fisheries Science Center, National Oceanic and Atmospheric Administration Fisheries Service, 74 Magruder Road, Highlands, NJ 07732, USA. ³Biology Department, Woods Hole Oceanographic Institution, 45 Water Street, Woods Hole, MA 02543, USA.

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: isaac.wirgin@nyumc.org

Adaptivní odpověď u člověka?

Možná existence u člověka je téměř výhradně vázána na působení radioaktivního záření - radiační hormeze.

Atomové bombardování (Hirošima, Nagasaki)

Jaderné havárie (Three Mile Island, Černobyl, Fukušima)

Přirozené pozadí



UKRC 2004 debate

Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis

L E FEINENDEGEN, MD

Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Germany and Brookhaven National Laboratory, Upton, NY, USA

Human exposure to high natural background radiation: what can it teach us about radiation risks?

Jolyon H Hendry^{1,9}, Steven L Simon², Andrzej Wojcik^{3,4,10},
Mehdi Sohrabi¹, Werner Burkart¹, Elisabeth Cardis⁵,
Dominique Laurier⁶, Margot Tirmarche⁶ and Isamu Hayata^{7,8}

VERY HIGH BACKGROUND RADIATION AREAS OF RAMSAR, IRAN: PRELIMINARY BIOLOGICAL STUDIES

M. Ghiassi-nejad,*† S. M. J. Mortazavi,*‡ J. R. Cameron,§ A. Niroomand-rad,|| and P. A. Karam¶

Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of individuals living in high background radiation areas of Ramsar, Iran

F. Zakeri · M. R. Rajabpour · S. A. Haeri ·
R. Kanda · I. Hayata · S. Nakamura ·
T. Sugahara · M. J. Ahmadpour

Dose-Response, 11:495–512, 2013
Formerly Nonlinearity in Biology, Toxicology, and Medicine
Copyright © 2013 University of Massachusetts
ISSN: 1559-3258
DOI: 10.2203/dose-response.13-005.Doss

InternationalDOSE-R

LINEAR NO-THRESHOLD MODEL VS. RADIATION HORMESIS

Mohan Doss □ Fox Chase Cancer Center

Chernobyl: the true scale of the accident

20 Years Later a UN Report Provides Definitive Answers and Ways to Repair Lives

Joint News Release WHO/IAEA/UNDP

5 SEPTEMBER 2005 | GENEVA - A total of up to 4000 people could eventually die of radiation exposure from the Chernobyl nuclear power plant (NPP) accident nearly 20 years ago, an international team of more than 100 scientists has concluded.

As of mid-2005, however, fewer than 50 deaths had been directly attributed to radiation from the disaster, almost all being highly exposed rescue workers, many who died within months of the accident but others who died as late as 2004.

Lokality s vysokou hladinou přirozené radiace

Průměrná roční dávka záření u běžné populace: 2.4 milisievertu (mSv)



Brazílie: ~20 000 osob, průměrná roční expozice 7 mSv

Čína: postiženo více než 125 000 osob, průměrná roční expozice 6.4 mSv



Indie: cca 360 000 osob, průměrná roční expozice: externí - 4.5 mGy, interní - 2.4 mSv



Írán: asi 1 000 osob, průměrná roční expozice: 2.5 až 72 mSv



U osob žijících v uvedených oblastech nebyl zjištěn zvýšený výskyt nádorových onemocnění

OSTRAVA

EXPONOVANÁ POPULACE



347 osob

Hlavní zdroj znečištění: Průmysl

PRAHA

KONTROLNÍ SKUPINA



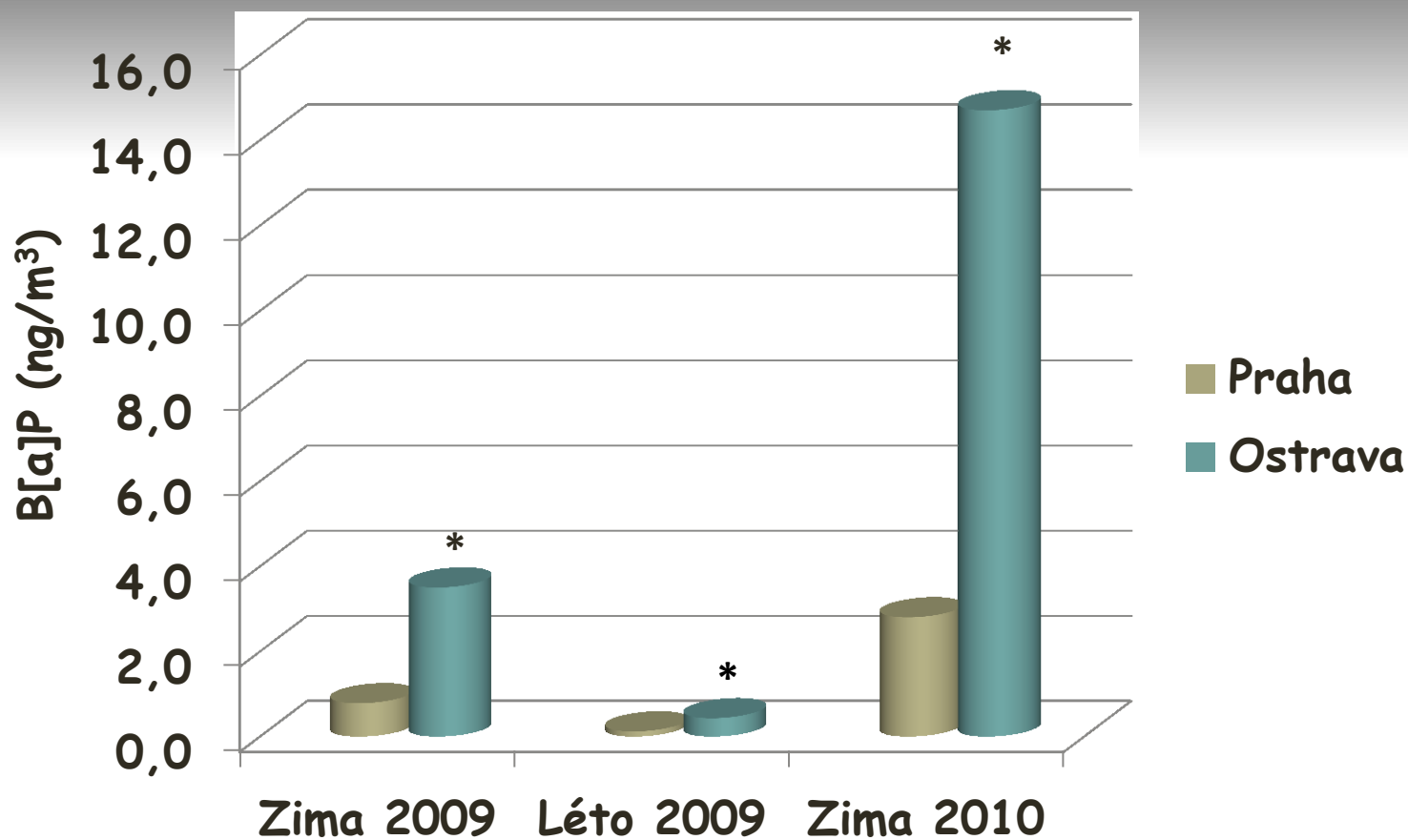
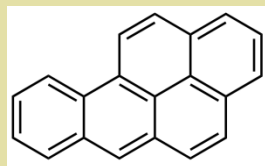
187 osob

Hlavní zdroj znečištění: Doprava

Znečišťující látky: prachové částice, polycyklic aromatické uhlovodíky

Odběr vzorků: zima 2009, léto 2009, zima 2010

Expozice benzo[a]pyrenu v Praze a Ostravě



Biomarkery u Ostravanů a Pražanů (zima 2010)

	PAU-DNA adukty/ 10^8 nukleotidů median (min, max)	$F_e/100$ median (min, max)	Mikrojádra/1000 DB median (min, max)
Praha (N=65)	1.35 (0.59, 2.87)	1.12 (0.00, 4.11)	6.67 (3.00, 14.0)
Ostravsko (N=149)	1.02 (0.44, 1.94) ^a	0.94 (0.00, 6.35)	6.33 (2.00, 15.0)
Ostrava centrum N=78)	1.07 (0.58, 1.94) ^a	0.75 (0.00, 5.23) ^b	6.50 (3.00, 14.0)
Bartovice (N=28)	1.19 (0.54, 1.94)	0.75 (0.00, 6.35)	6.17 (3.00, 15.0)
Karviná (N=31)	0.67 (0.51, 1.82) ^a	1.49 (0.00, 4.48)	6.00 (2.00, 15.0)
Havířov (N=12)	0.96 (0.44, 1.62) ^b	1.49 (0.00, 4.48)	6.67 (4.00, 9.00)

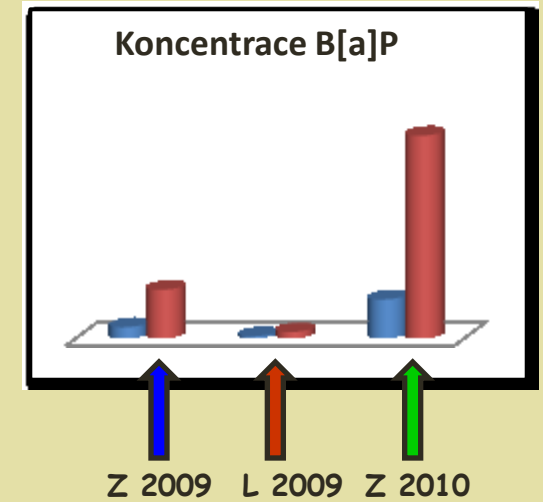
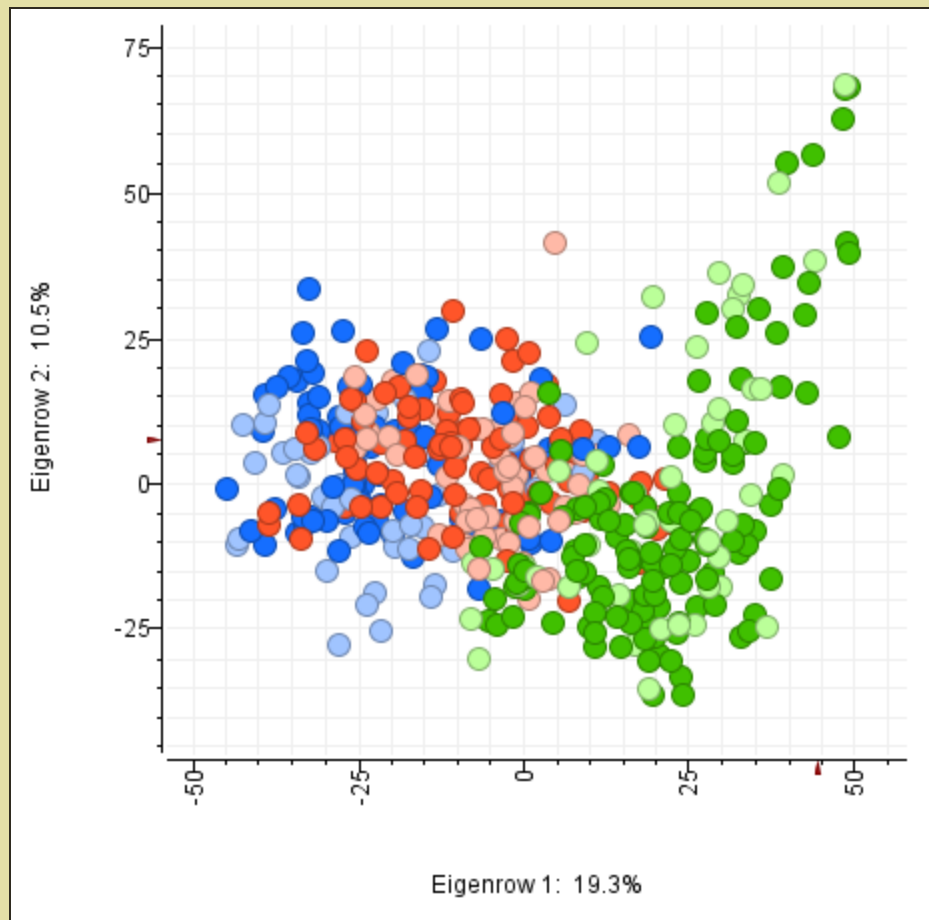
^a $p < 0.001$; ^b $p < 0.05$; porovnání Havířov a Ostrava centrum vs. Praha

Vztah dávky a účinku zde evidentně neplatí...

Vysvětlení jsme hledali pomocí analýzy genové exprese.

Principal Component Analysis

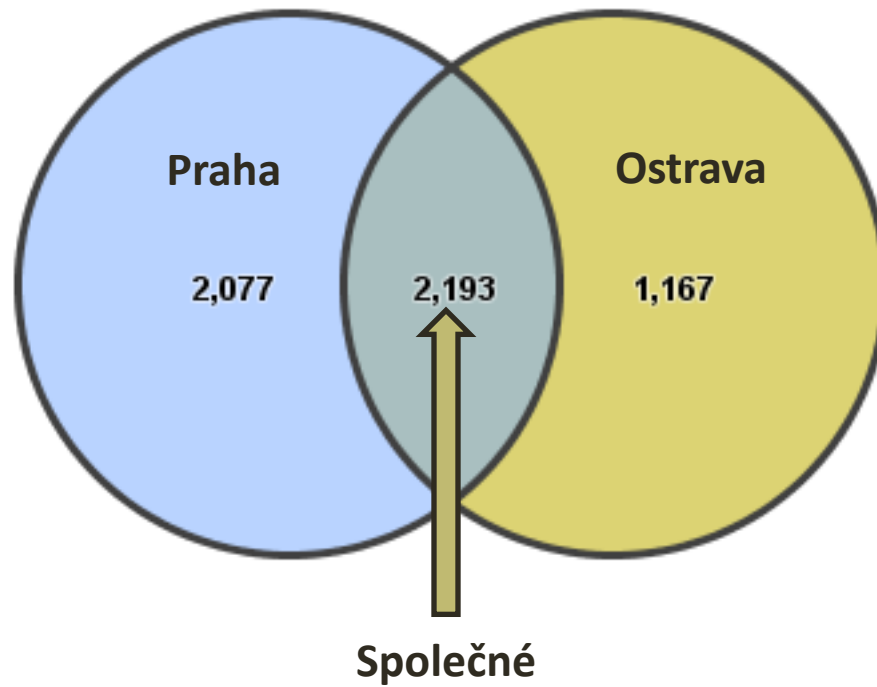
Data z analýzy genové exprese pro odběrová období a lokality



- Praha zima 2009
- Ostrava zima 2009
- Praha léto 2009
- Ostrava léto 2009
- Praha zima 2010
- Ostrava zima 2010

Vennovy diagramy

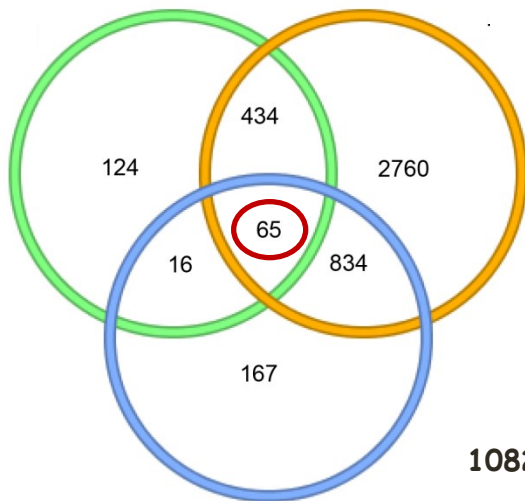
Deregulované transkripty specifické pro lokalitu a společné pro obě lokality



Vennovy diagramy podle lokality

Diferenciálně exprimované transkripty - vliv období

639 transkriptů
1 vs. 2



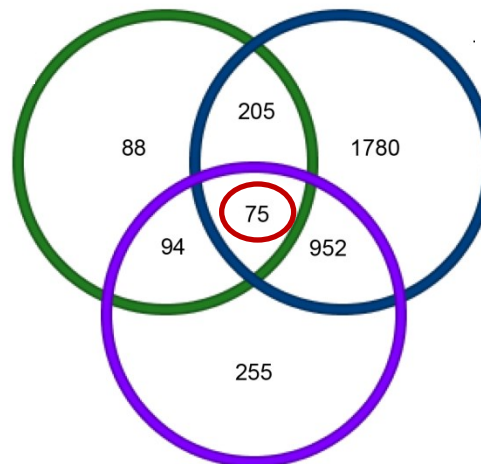
4093 transkriptů
1 vs. 3

1 - zima 2009
2 - léto 2009
3 - zima 2010

1082 transkriptů
2 vs. 3

PRAHA

462 transkriptů
1 vs. 2

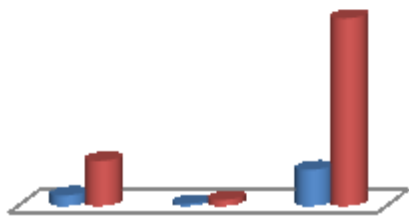


3012 transkriptů
1 vs. 3

1376 transkriptů
2 vs. 3

OSTRAVA

Koncentrace B[a]P

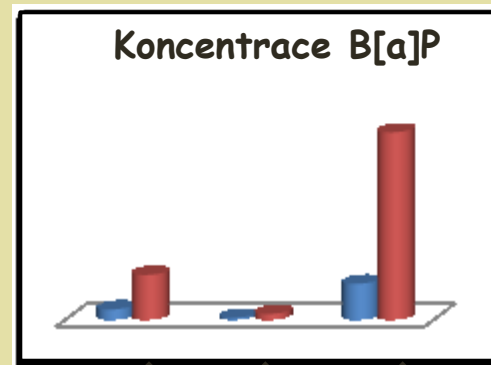
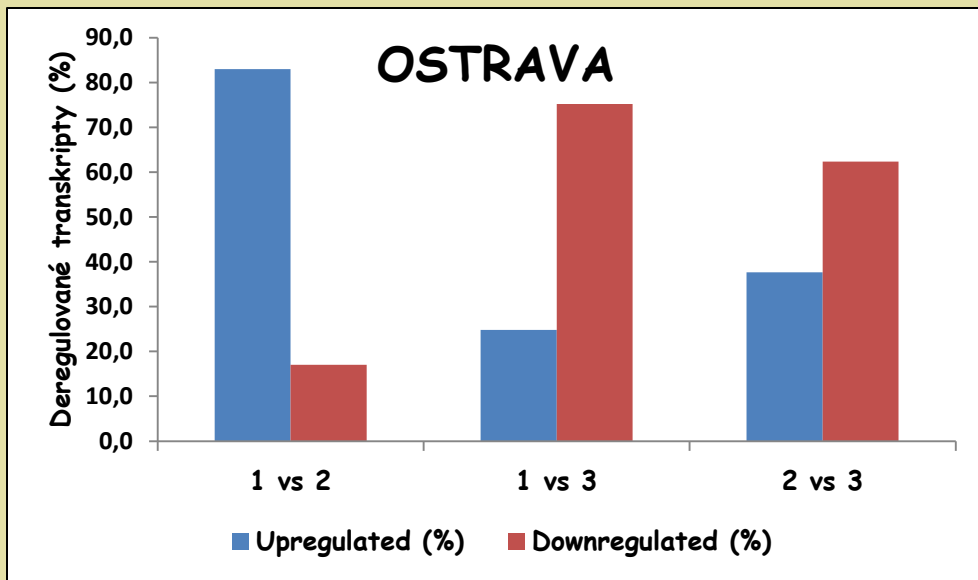
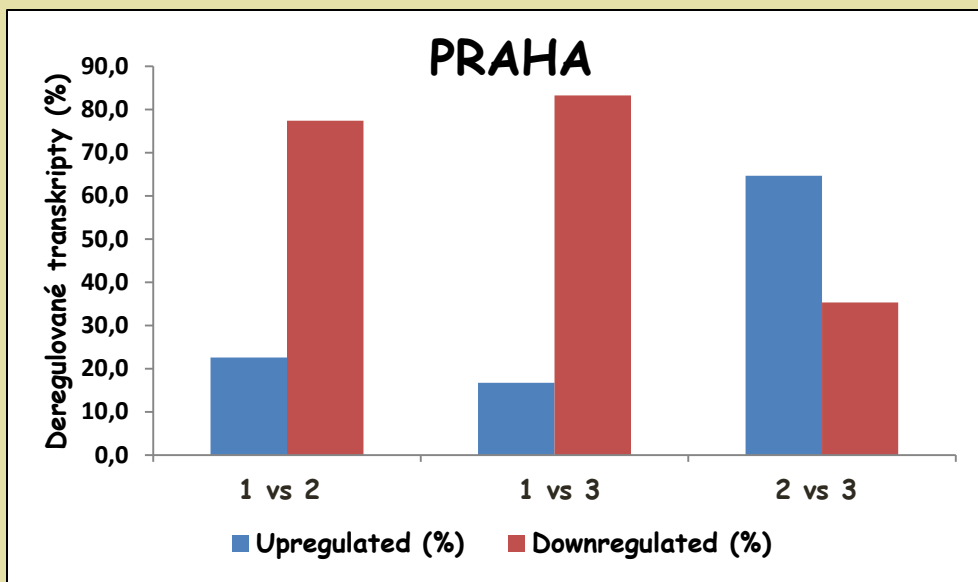


Z 2009 L 2009 Z 2010

Up- a downregulované transkripty (%) - vliv období



Koncentrace polutantů
(pokles/vzestup)

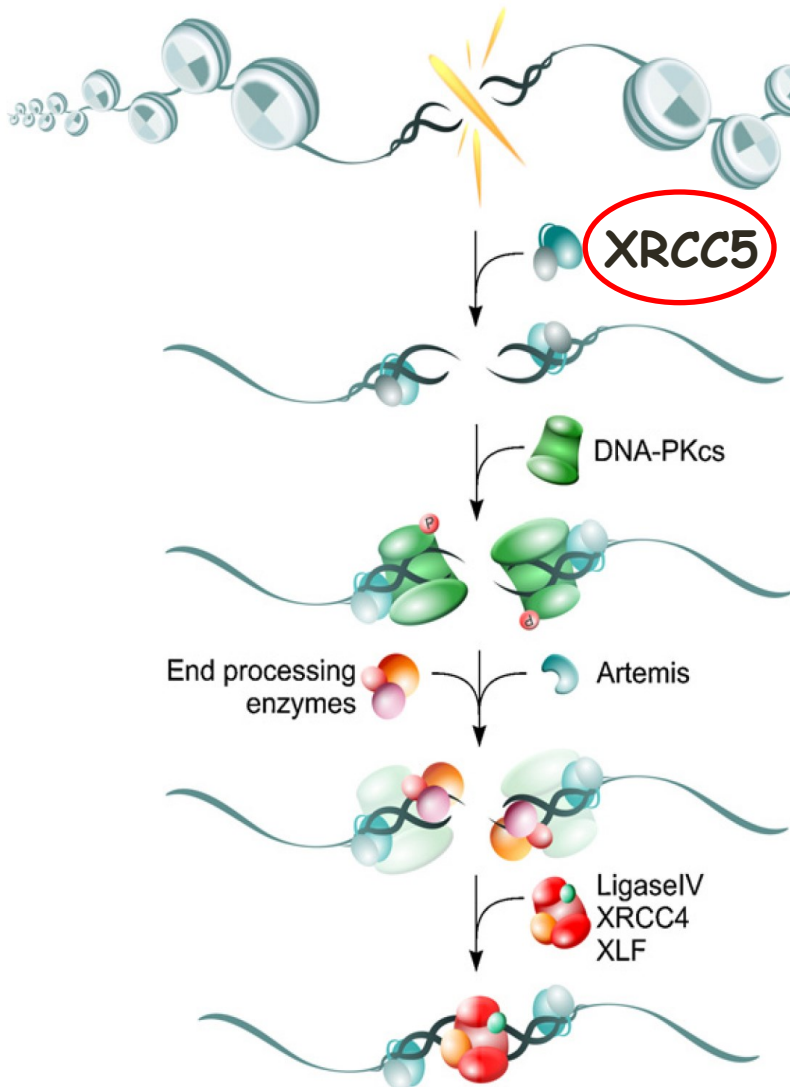


Z 2009 L 2009 Z 2010

1 - zima 2009
2 - léto 2009
3 - zima 2010

Co dělá XRCC5

Zlom v DNA



Mladenov a Iliakis, Mutat. Res. 711, 61, 2011

Ať Ostragen svítí jako hvězda

Jaromír Nohavica

Psali teď před pár dny v novinách o velkém objevu. Vědci zjistili, že my Ostraváci máme na rozdíl od Pražáků navíc jeden gen. Ten nás prý činí odolnějšími proti smogu. Kdyby se zeptali mě, nemuseli vůbec složitě bát. Já to o tom genu vím odjak-



komplet všechny úřady. Václa

to bolelo, svět se nezbořil a my jedeme dál. A teď si představte, že by v Praze, kde lidi žijí bez toho genu, zaví

Bez genu určitě. Ale Ostrava jeden. Ten to zvládá jako jse. Proč? Protože má gen

A co teprve špatné ovzdušné dny, kdy u nás padne ní deka, by města bez genu la a udusila se. Ostrava? Mzum? Ani omylem. Naopa

12.11.2011

XRCC5 vyhledává zlomy v DNA.

"To, že bych měl mít já a Ostravané nějaký unikátní gen, který mi pomáhá vyrovnat se se smogem, beru s humorem. **Nevidím důvod dávat peníze do výzkumu,** který vyzkoumá jen to, co tady všichni víme. Že zde máme špatné ovzduší ovlivňující zdraví lidí."

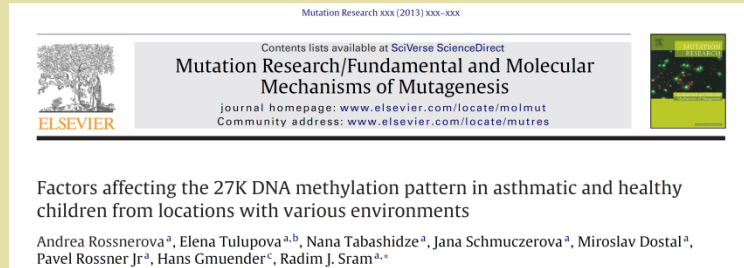
Náměstek ostravského primátora pro oblast životního prostředí **Dalibor Madej (ODS)**

29.11.2011

Další kandidáti na „Ostragen“

<i>Gen</i>	<i>Celý název</i>	<i>Funkce</i>
IL1B	Interleukin 1, beta	Zánět
GSTM1	Glutathion S-transferáza M1	Metabolismus PAU
PTGS2	Prostaglandin-endoperoxidáza syntáza 2	Metabolismus PAU
ATM	Ataxia telangiectasia mutated	Regulace buněčného cyklu po poškození DNA
GADD45A	Growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha	Zastavení buněčného cyklu po poškození DNA
DMAP1	Protein asociovaný s DNA methyltransferázou	Blokuje transkripci
RAD21	RAD21 homolog	Oprava dvouřetězcových zlomů v DNA

Znečištěné ovzduší ovlivňuje metylaci DNA u dětí



Studované skupiny

- Celkem 200 dětí (7-15 let):
- 100 - Ostrava Bartovice a Radvanice
 - 100 - Prachaticko
 - odběr krve - březen 2010

Znečištění B[a]P - 3/2010

- stacionární monitoring:



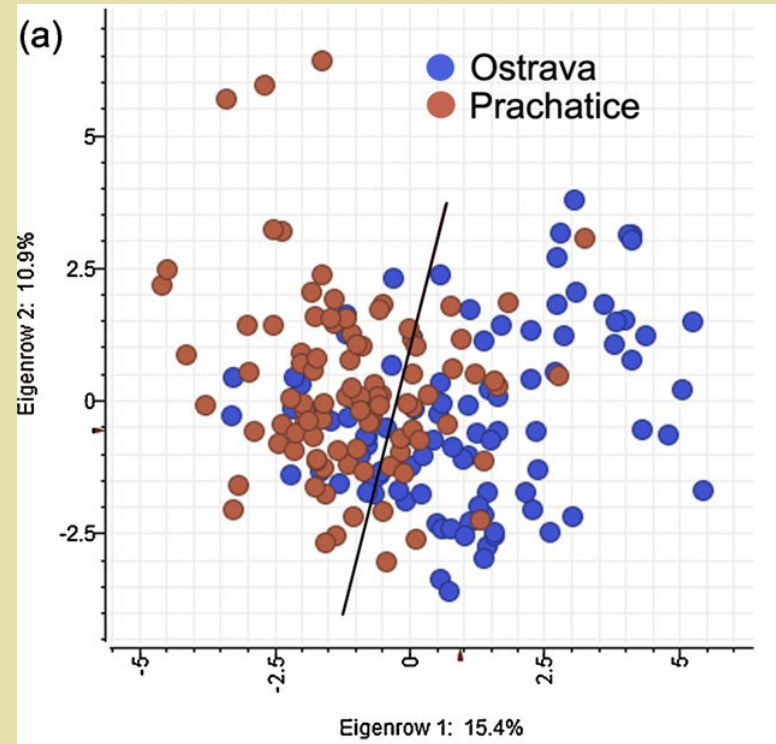
10.1 ng/m³



1.8 ng/m³

Výsledky

- Analýza 27 578 metylovaných míst ve více než 14 000 genech
- **9 916** míst bylo rozdílně metylovaných, z toho 58 míst s rozdílem metylace > 10% (hypometylace)



Závěry

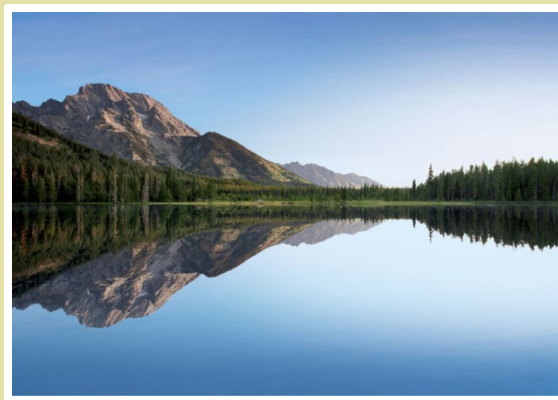
Živé organismy mají schopnost adaptovat se na nepříznivé vlivy prostředí.

Adaptivní odpověď na znečištěné ovzduší pravděpodobně stojí za změnami genové exprese u Ostravanů.

Tyto změny ale neřeší řadu nepříznivých důsledků znečištění na člověka, např. vysokou nemocnost dětí.

Z dlouhodobého hlediska dochází k rychlejšímu „opotřebení“ organismu v důsledku vyšší aktivity opravných a regulačních mechanismů v buňkách, které se mohou projevit ve zkrácení průměrné délce života.

DĚKUJI ZA POZORNOST



Děkujeme ostravským, pražským a prachatickým dobrovolníkům, kteří se studie zúčastnili.

Studie byla podpořena granty Ministerstva životního prostředí ČR (SP/1b3/8/08) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (2B08005).