

Abstrakt

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) tvoří rozsáhlou skupinu organických sloučenin vyskytujících se jako polutanty ve vnějším ovzduší. Kromě genotoxických účinků působí některé z nich jako kompletní karcinogeny, tzn. mají také negenotoxické a nádorově promoční vlastnosti. Ačkoli jsou účinky mnoha individuálních PAU dobře popsány, k expozici člověka ve vnějším prostředí dochází především působením komplexních směsí obsahujících PAU a pouze několik málo prací se věnuje problematice působení těchto reálných komplexních směsí.

První část dizertační práce se zabývá změnami globální genové exprese v lidských embryonálních plicních fibroblastech po působení komplexních směsí obsahujících PAU extrahovaných z respirabilních prachových částic $PM_{2.5}$ v ovzduší. Částice byly odebrány ve 4 lokalitách České republiky (Ostrava – Bartovice, Ostrava – Poruba, Karviná a Třeboň), které se liší mírou i zdroji znečištění ovzduší. Pro stanovení změn genové exprese jsme analyzovali buňky inkubované 24h se 3 subtoxickými koncentracemi organických extraktů částic z ovzduší (EOM) z každé lokality pomocí čipové technologie. Pro hlubší interpretaci dat jsme použili analýzu signálních drah s využitím databáze Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). V každé lokalitě jsme identifikovali deregulované signální dráhy a geny s největšími příspěvky. Většina deregulovaných drah byla ovlivňována v závislosti na aktivaci arylhydrokarbonového receptoru (AhR). Největší změnu ve všech 4 lokalitách měla dráha Metabolismus xenobiotik cytochromy P450 a gen CYP1B1, který nejvíce přispíval k deregulaci dráhy. Analýza genové exprese prokázala, že ačkoli se jednotlivé lokality liší původem znečištění ovzduší, biologické účinky organických extraktů se kvalitativně významně neliší.

Druhá část dizertační práce se zaměřuje na modulační účinky PAU na vznik a průběh specifického nádorového onemocnění prostaty. Linie androgen-senzitivních nádorových buněk prostaty (LNCaP) byla použita pro objasnění mechanismu přežívání buněk s poškozenou DNA a pro vysvětlení dalších mechanismů vedoucích k nádorové promoci a progresi. Po inkubaci se silnými mutageny benzo[a]pyrenem (B[a]P) a dibenzo[a,l]pyrenem (DB[a,l]P) jsme pozorovali indukci cytochromů P450, které se účastní metabolické aktivity PAU. Navzdory tvorbě velkého množství DNA aduktů v buňkách LNCaP, nebyla indukována apoptóza, zástava buněčného cyklu, dvouřetězcové zlomy ani reparace DNA. Akumulace poškození DNA a neschopnost aktivace buněčné odpovědi u těchto buněk může vést až k rozvoji agresivnímu typu nádoru. Pro studium globálních změn v genové expresi buněk LNCaP jsme využili čipovou analýzu genové exprese a porovnali jsme expresní profily LNCaP inkubovaných s B[a]P a 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxinem (TCDD), negenotoxickým aktivátorem AhR. Z výsledků porovnání vyplývá, že existuje velký překryv stejných deregulovaných genů. Více než 64% signifikantně up-regulovaných a 47% signifikantně down-regulovaných genů bylo společných po inkubaci buněk s B[a]P i TCDD. Analýza signálních drah ukazuje na snížení exprese genů souvisejících s regulací a progresí buněčného cyklu. Tyto procesy pravděpodobně souvisí s negenotoxickými účinky B[a]P a významným působením aktivovaného AhR.

Tato dizertační práce ukazuje možnosti využití transkriptomiky v různých mechanistických toxikologických studiích. Čipová analýza umožňuje zkoumat nejen působení komplexních směsí a jejich rozmanité účinky, ale také odhalit detailní mechanismus působení individuální sloučeniny, např. v konkrétním nádorovém onemocnění a vysvětlit klíčovou roli aktivace AhR při působení PAU.