

Toxikologie

Toxikologie

věda, která se zabývá studiem nepříznivých účinků chemických, fyzikálních a biologických agens na živé organismy a ekosystémy včetně prevence a léčby těchto nepříznivých účinků. (Society of Toxicology)

JED

Paracelsus : „Všechny substance jsou jedy, neexistuje žádná, která by jím nemohla být. Pouze dávka odlišuje jed od látky neškodné nebo léku.“

Jed = Toxin: jakákoliv substance, která i v malém množství nebo nízké koncentraci, po jednorázovém nebo opakovaném podání, způsobí poškození nebo smrt organismu

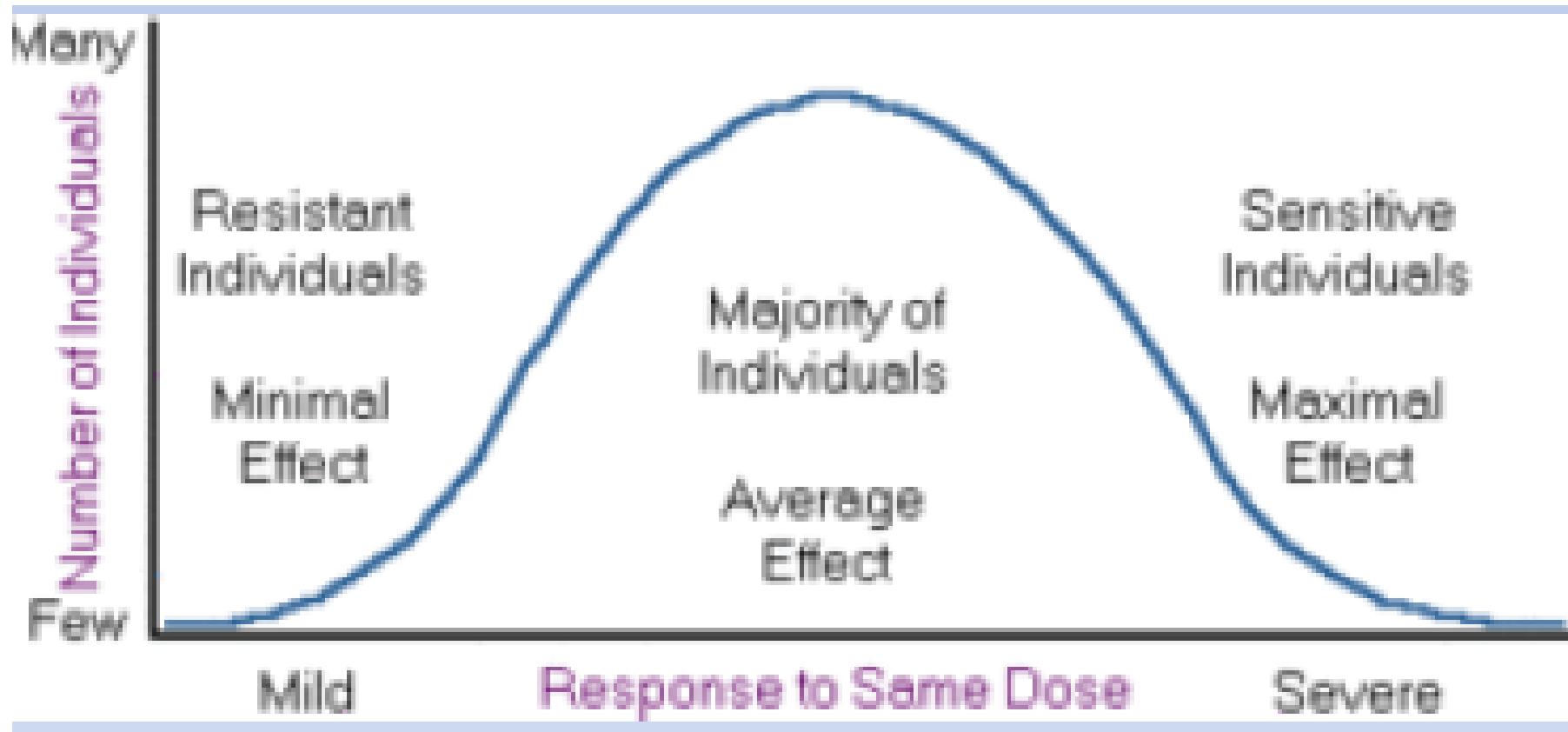
Toxický = nežádoucí, nepříznivý

Toxicita je podmíněna:

- Koncentrací – dávkou
- Komplexací (formou jedu) – nerozpustné látky se nevstřebávají, tedy nejsou toxické; co je rozpustné, může být toxické
- Kompeticí (současně podané látky) – soutěž o vazbu na receptor/enzym
- Cesta podání (nejrychleji intravenózní a inhalační podání)
- Vnímavost organismu

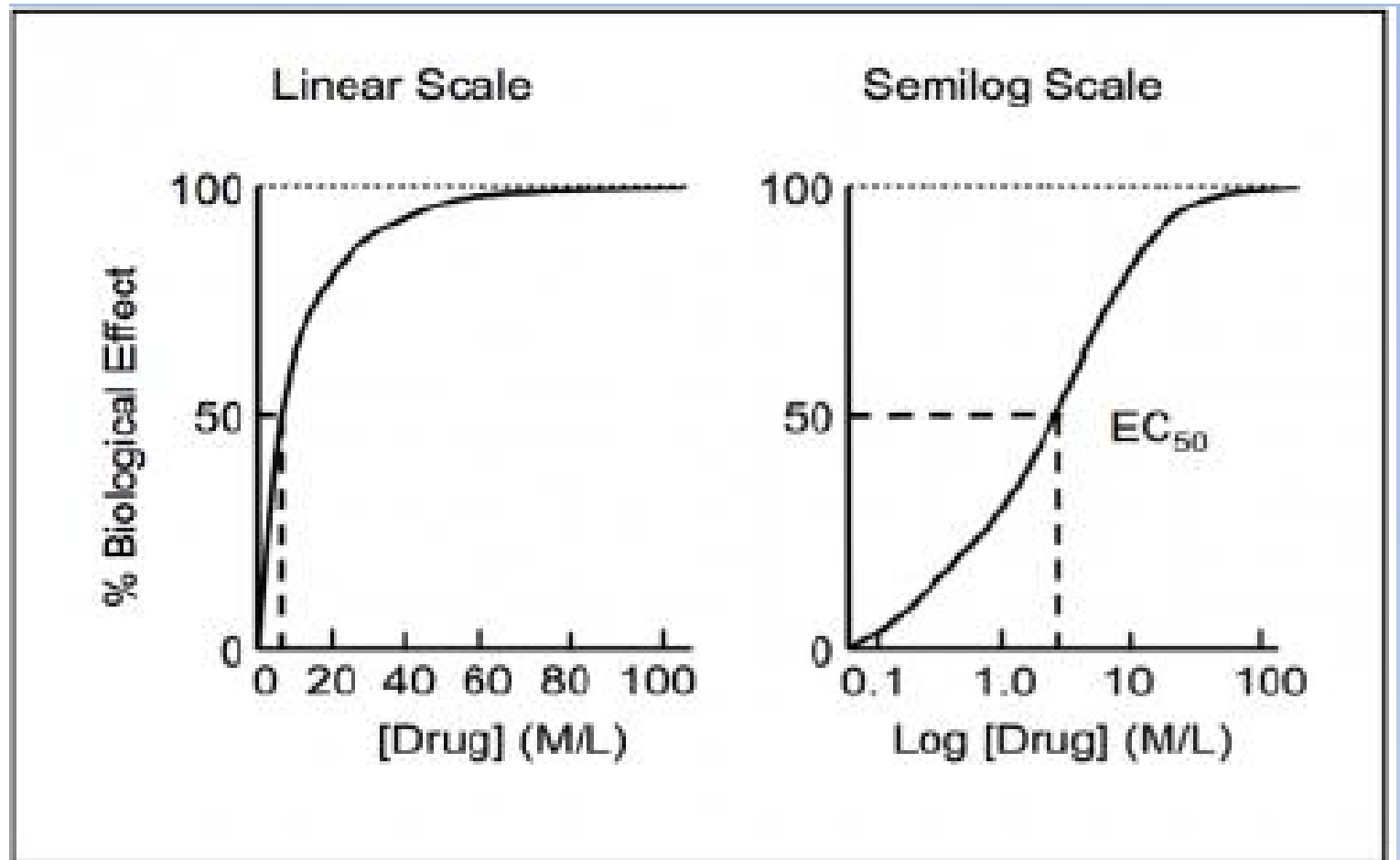
VLIV DÁVKY

- Velikost dávky podmiňuje účinek



VLIV VÍCE DÁVEK

- Sledují vliv zvyšující se koncentrace toxinu na míru výskytu účinku



DÁVKY

NOAEL: nejvyšší koncentrace, při které ještě není pozorován toxický účinek

LOAEL: nejnižší koncentrace, kdy už byl pozorován toxický účinek

ADI (= acceptable daily intake): přijatelná denní dávka sloučrniny, která by neměla mít dopad na lidské zdraví

LD: letální = smrtelná dávka

Toxicita a její hodnocení

1. Metody hodnocení vycházející ze **známých případů z praxe, z případových studií** – není-li možné látku testovat na lidech ani na zvířatech, potom je nutné vypožorovat a odvodit, co nejvíce poznatků z případů otrav
2. Metody předpovědi toxicity jsou založeny na faktu, že **chemická struktura látek předurčuje některé jejich vlastnosti** – i biologický efekt (metoda QSAR = quantitative structure – Activity relationship)
3. Testy toxicity mohou probíhat na různých úrovních:
 1. In vitro – testy na buňkách a tkáních (rychlé, levné, dobře reprodukovatelné, nevypovídají nic o vlivu na orgánové soustavy a organismus)
 2. Organismy – bakterie, rostliny, zvířata, lidé (OECD = Organisation for economic Cooperation and development, ISO = international organization for Sandardization)
 3. Biocenózy (= všechny organismy v určitém prostoru): velká časová a finanční náročnost, nejlepší popis vlivu na prostředí

Toxicita – podle délky působení

1. Akutní: účinky se dostaví během 24 hodin po vystavení toxinu
2. Subchronická: kumulativní účinek, kdy toxin působil na organismus po delší dobu (měsíce až rok)
3. Chronická: nepříznivý účinek se vyskytuje po delší dobu expozice toxinu

Toxikologie – rozčlenění

- Klinická toxikologie – prevence, diagnóza, léčba otrav
- Forenzní toxikologie – toxikologická analýza vzorků pro právní účely
- Toxikologie potravin – analýza toxických látek v potravinách a jejich vliv/působení
- Pracovní toxikologie – BOZP
- Enviromentální toxikologie – vliv škodlivých látek na životní prostředí

Disciplíny obecné toxikologie

1. Toxikokinetika = osud jedu v organismu

- Přijetí - absorpce – transport – distribuce – biotransformace - exkrece

2. Toxikodynamika = mechanismus působení jedu na organismus

- Specifický vs. nespecifický účinek

Klasifikace toxikologických sloučenin

- A. Podle cílového orgánu
- B. Podle způsobu účinku
- C. Podle způsobu použití či běžného místa výskytu (např. mykotoxiny, pesticidy, ...)
- D. Podle chemické struktury (např. organofosfáty, kyseliny, ...)

Ad a) Podle cílového orgánu

1. Hematotoxicita

- a) látky vázající se na Hb a tím blokuující přenos kyslíku
- Karbonylhemoglobin (COHb) – reverzibilní vazba, terapie: podávání kyslíku, hyperbarická oxygenoterapie
 - Methemoglobin (MetHb) – způsobeno látkami oxidujícími Fe 2+ na 3+ (dusitany, anilinová barviva, sulfonamidy); terapie: methylenová modř
 - Kyanhemoglobin (HbCN) – způsobeno kyanidy a kyanovodíkem, které působí i na cytochromy dýchacího řetězce; zásadava tkáňového dýchání, rychlé úmrtí; antidotum: Cyanokit = hydroxokobalamin
 - Sulfhemoglobin (SulfHb) – způsobeno sulfanem; terapie: 100% kyslík inhalačně

Ad a) Podle cílového orgánu

1. Hematotoxicita

- b) předávkování warfarinem, kdy dojde k inhibici tvorby faktorů srážlivost; terapie: podání vitamínu K
- c) léky potlačující funkci kostní dřeně: např. methyldopa, allopurinol

Ad a) Podle cílového orgánu

2. Hepatotoxicity

a) Ethanol

- rychlost intoxikace závisí na obsahu žaludku, rychlosti požití alkoholu, složení potravy, rychlosti vyprazdňování GIT
- z 90% je etanol z organismu vylučován metabolickými procesy, jen z 10% pak dechem, potem či močí
- metabolická eliminace je závislá na účinnosti jaterního enzymu alkoholdehydrogenázy (etanol oxidován na etanal) – konečnými produkty jsou oxid uhličitý a voda
- chronické požívání alkoholu může vést k steatóze až cirhóze jater (bývá zvýšená GMT a podíl bezsacharidového transferinu (CDT), který slouží k monitorování dlouhodobého zneužívání alkoholu)
- při velkém množství požitého etanolu, etanol působí na CNS, vyvolává metabolickou acidózu, hypoglykémii, hyperurikémii, vzestup ALT a výrazný nárůst osmolality (LD: 5-8g/kg hmotnosti)

Ad a) Podle cílového orgánu

3. Nefrotoxicita

- a) Kovy Cd, Hg, Pb
 - poškození buněk tubulu ledvin – tubulární nekróza
- b) Aminoglykosidy
- c) Cisplatina

Ad a) Podle cílového orgánu

4. Neurotoxicita

a) Organofosfáty

- inhibice působení acetylcholinesterázy, porušení vedení nervového vzruchu
- parathion, methylthion, bojové plyny: sarin, tabun)
- terapie: atropin + oximové sloučeniny

b) Botulin

- inhibice uvolnění acetylcholinu (neurotransmitér)

c) Tetrodotoxin

- inhibice Na⁺ kanálů

Ad a) Podle cílového orgánu

5. Pulmonotoxicita

- a) Azbest, hliníkový prach
- b) Amoniak
- c) Chlór
- d) Kouření

Ad a) Podle cílového orgánu

6. Imunotoxicita

Látky vyvolávající alergickou reakci

- okamžitá reakce (atopie; př. včelí bodnutí)
- tvorba nových antigenů
- hromadění komplexů antigen-protilátka v tkáních
- aktivace makrofágů aktivovanými T-lymfocyty (kontaktní alergická dermatitida – opakované vystavení dané látce)

Ad b) Podle způsobu účinku

1. Obecně působící: ovlivňují metabolické pochody
2. Karcinogeny
3. Mutageny
4. Teratogeny
5. Narkotické jedy
6. Alergeny

Toxikologické laboratorní vyšetření

- ✓ poskytuje důkaz či vyloučení přítomnosti jedů
- ✓ vyžaduje znalosti o osudu látky v organismu
- ✓ vyžaduje vhodnou volbu biologického materiálu a izolačního postupu

Možnosti izolace jedů:

- ✓ těkavé látky – destilace
- ✓ léčiva, drogy – extrakce
- ✓ anorganické látky – kovy – mineralizace, ionty – iontoměniče
- ✓ rostliny, houby – mikroskopické vyšetření

Biologický materiál používaný v toxikologii

- krev/sérum – přímý vztah mezi tíží otravy a koncentrací jedu v krvi; je nutné použít velmi citlivé metody (nízké koncentrace jedů v krvi)
- moč – není problém získat velké množství, jed je zde ve vyšší koncentraci (i když záleží na zahuštění moči, může se tady najít nejen jed, ale i jeho různé metabolity)
- žaludeční obsah – zvratky, prvá porce výplachu žaludku; význam má pouze pro identifikaci druhu jedu, nelze usuzovat na stupeň otravy

Biologický materiál používaný v toxikologii

- dech – obsahuje těkavé látky – alkohol, oxid uhelnatý, chlorované uhlovodíky; rychlý průkaz těchto jedů
- sliny – existují testy, které ze slin dokáží prokázat některé drogy
- vlasy, nehty – kumulují se zde např. těžké kovy; dají se zde prokázat drogy (např. mamarihuana) – podle rychlosti odrostu, je možné odhadnout dobu, kdy došlo k intoxikaci
- tkáně – až post mortem, průkaz jedu
- zbytky potravin – při podezření na otravu z potravin

Biologický materiál používaný v toxikologii

- volba biologického materiálu závisí na mnoha faktorech – známý/neznámý jed, doba od předpokládané otravy, druh jedu a jeho biologický poločas, způsob vylučování z organismu
- při neznámé látce je vhodné odebrat co nejširší spektrum materiálu
- podle času od otravy: bezprostřední = vydechovaný vzduch; několik hodin = krev, sérum, žaludeční obsah; více hodin až dny = krev, moč; měsíc až roky = vlasy (1cm = asi měsíc); půl roku a víc = nehty

Testování léčiv a drog v biologickém materiálu

| | krev, sérum | moč | sliny | vlasý |
|-------------------|---------------------------|------------------|-------------|-------------|
| Odběr vzorku | Invazivní | neinvazivní | neinvazivní | neinvazivní |
| Množství vzorku | Krev: 10ml Sérum: 2 ml | > 50 ml | 1 - 5 ml | 50 – 300 mg |
| Koncentrace látek | nízká | vyšší metabolity | nízká | nízká |
| Detekční okno | min. – hod. | hodiny, dny | min. – hod. | měsíce |

Co se stanovuje – detekuje?

- Samotný jed – např. olovo v krvi, arsen ve vlasech, ...
- Metabolity jedu – nejčastěji je stanovujeme v moči (za detoxikaci v organismu jsou zodpovědná játra – kde jsou cizorodé látky (tedy i jedy) metabolizovány – v některých případech může být požitá látka neškodná a jedem je až její metabolit
- Látky, jejichž koncentrace se mění v souvislosti s otravou – otrava organofosfáty vede ke snížení aktivity choliesterázy

Systematická toxikologická analýza (STA)

System logicky na sebe navazujících analytických postupů

3 fáze toxikologické analýzy neznámých tox

1. screening = záchyt = detekce

2. identifikace chemického individua

3. stanovení = kvantifikace známé látky

> průkaz

Detekce/stanovení toxických látek

1. Chromatografické metody

a. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

b. Plynová chromatografie (GC)

c. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

- Používají se v kombinaci s vhodným detektorem GC a HPLC se kombinují s hmotnostní spektroskopií (MS)

Detekce/stanovení toxických látek

2. Imunochemické metody

- umožňují kvantifikaci konkrétního jedu v biologickém materiálu bez předchozí úpravy vzorků
- vysoce citlivé metody – jsou schopné stanovit i velmi nízké koncentrace (ng až pg)
- relativně rychlé, dají se automatizovat
- nevýhodou je dost vysoká cena

Detekce/stanovení toxických látek

3. Tandemová hmotnostní spektroskopie

- Spojení dvou hmotnostních spektroskopií v tandemu za sebou
- Vysoká pořizovací cena – velmi náročné na provoz (nutno dodržovat určité podmínky, přístroje jsou velmi citlivé)
- umožňuje stanovit velmi široké spektrum látek

Otravy vybranými anorganickými a organickými látkami

Amoniak

- bezbarvý, vysoce dráždivý plyn s nepříjemným a pronikavým zápachem; při vyšších teplotách vznětlivý a hořlavý
- snadno rozpustný ve vodě
- NH_3 se vyskytuje ve dvou formách: neionizovaný (NH_3 – toxický) a ionizovaný NH_4^+ (netoxický)

Klinické příznaky:

- Rapidní iritace sliznic (oka a nosu); při kožním kontaktu – poleptání
- Iritace krku a dýchacích cest = laryngospasmus a edém
- Při požití – pálení, bolesti GIT, zvracení, perforace žaludku a jícnu

Terapie:

Při inhalačním příjmu – čerstvý vzduch, kyslík, inhalace aerosolu 1% prokainu s 2% kyselinou citronovou

Při per orálním příjmu – neutralizace žaludku 1-2% roztokem kyseliny octové

Oxid uhličitý

- běžná koncentrace v ovzduší je 0,03%
- těžší než vzduch, kumuluje se dole; bezbarvý a bez zápachu
- v krvi putuje buď rozpuštěný, nebo navázaný na hemoglobin – tvorba karbaminohemoglobinu, který nepřenáší kyslík
- koncentrace kolem 5% - narkotický účinek, tachypnoe, zvýšení TK, snížení tělesné teploty
- koncentrace přes 20% - rychlá apnoe a smrt

Terapie: inhalace kyslíku, centrální analeptika (=léky povzbuzující vitální funkce, zejména činnost mozku)

Polychlorované bifenyly (PCB)

- synteticky připravené látky s výbornými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které vedly k jejich rozsáhlému používání (teplonosná media, plastifikátory při výrobě barev a laků, ...).
- když vyplynulo, že PCB jsou nebezpečné – omezení a později zastavení a zákaz výroby a použití (POPs, Stockholmská úmluva).
- silně lipofilní látky
- mají imuntoxické a imunosupresivní účinky, poškozují kůži, narušují činnost štítné žlázy, suspektní karcinogeny

Toxiny sinic = Cyanotoxiny

- produkované cyanobakteriemi = sinicemi (tvorí na vodní hladině tzv. vodní květ)
- uvolňují se po smrti buněk sinic, při masivním úhynu sinic nejsou rozloženy vodními bakteriemi a způsobí poškození:
 - dermatotoxické, embryotoxické a imunotoxické působení
 - Neurotoxické (anatoxin – efekt podobný organofosfátům)
 - Hepatotoxické – microcystin + nodularin – narušují fosforylaci proteinů

Ftaláty

- Používají se při výrobě PVC, laků, barviv atd.
- snadno se uvolňují př. z hraček nebo obalů potravin, hlavně při vyšších teplotách
- mají xenoestrogenní (= napodobují estrogen) účinek a jsou karcinogenní, deponují se ve vodním prostředí a potravním řetězci
- absorbují se orálně i přes kůži
- degradace v organismu – žádná oxidace/redukce, pouze konjugace

Akutní toxicita: únava, rozmazané vidění, slzení

Chronická toxicita: poškození jater, ledvin, zvýšená pigmentace, poruchy plodnosti, riziko alergií

Methanol

- bezbarvá tekutina
- používá se jako rozpouštědlo, nemrznoucí kapalina, palivo, uvolňuje se z náhradního sladidla aspartamu
- přeměňován na formaldehyd a kyselinu mravenčí – alkoholdehydrogenázou a aldehyddehydrogenázou. Metanol sám není toxický, jeho produkty ano.

Formaldehyd: váže se na Fe^{3+} v oxidačních enzymech neuronů a poškozuje je

Kys. Mravenčí: degradována na CO_2 a H_2O , tento proces je pomalý a potřebuje jako kofaktor kyselinu listovou - kumulace kys. mravenčí způsobuje acidózu

Terapie: infuze etanolu – kompetice dvou substrátů o enzym, metanol může být vyloučen v nezměněné formě. Také lze použít 4-methylpyrazol (fomepizol) – inhibitor alkoholdehydrogenázy.

Ethylenglykol

- Rychle se absorbuje i metabolizuje = akutní otravy

Otrava probíhá ve 3 stádiích:

Stádium 1: neurologické příznaky, nevolnost, zmatení – vznikají metabolity glykolaldehyd, glykolová a glyoxalová kyselina

Stádium 2: je výsledkem kumulace těchto, hl. kyselých, metabolitů - tachykardie, hypertenze, hyperventilace a metabolická acidóza

Stádium 3: selhání ledvin v důsledku nahromadění koncového metabolitu kys. šťavelové – poškození ledvin a často smrt na renální selhání

Terapie: infuze etanolu nebo fomepizol