Ústav soudního lékařství a toxikologie, 1. LF UK a VFN Praha

TOXICITA – ÚČINKY NOX

Marie Balíková

Paracelsus (1493-1541):

„Dosis sola facit ut venenum non sit"

(Je to dávka, která určuje, zda nejde o jed)

Dnešní komplexnější pojetí toxicity

- Způsob podání, frekvence dávek (Hg; opiáty…)
- Biodostupnost
- Individuelní vnímavost organismu – genetický základ, fyziologické a externí vlivy (věk, choroby, dieta, kouření…)

Otrava - intoxikace

Interakce jedu a organismu, zásah do metabolických dějů, poškození funkcí orgánů, morfologické změny.

Osud jedu v organismu - toxikokinetika

Účinky jedu na organismus - toxikodynamika

Metabolismus jedu - detoxikace nebo bioaktivace

Akutní intoxikace: jedy neurotoxické, hepatotoxické, nefrotoxické, kardiotoxické, embryotoxické…..

Chronická intoxikace: vývojové poškození, kancerogenita, genotoxicita……vznik alergií….

Chronický abuzus drog, vývoj tolerance

Jedy a mechanismus poškození

- Poškozující funkci cílových orgánů. Toxicita je funkcí koncentrace na cílových orgánech, receptorech. Přechodné toxické účinky – míra eliminace jedu z cílových míst (ethanol, sedativa, hypnotika….)
- Poškozující buňky, vyvolávající celulární léze. Trvalé poškození. Míra poškození závisí na dosažení koncentrace na cílovém orgánu (amanitiny, rtuť….)
- Kombinované mechanismy, např. prolongovaná buněčná hypoxie (CO, HCN), vznik cytotoxických metabolitů (methanol, glykol…). Chronické působení

Toxicita, účinky, toxikodynamika

- toxicita původní formy, chemická struktura (studie QSAR)
- způsob podání, aplikace, expozice (biodostupnost)
- doba expozice, frekvence dávek
- osud látky v organismu, toxikokinetika, tj. absorpce, distribuce, biotransformace, eliminace

<u>Toxikokinetika</u> – genetické a fyziologické faktory vlivu

Inter a intraindividuální variabilita metabolismu
variabilita enzymové kapacity při biotransformaci

Toxicita látek

- Akutní
- Chronická

Poznatky o toxicitě látek:

a) kazuistiky – úplnost a spolehlivost anamnestických dat, odfiltrování interferujících vlivů, např. směsné otravy, neznámé faktory

b) epidemiologické studie – než. úč. léčiv a terapeutická efektivita – statistické hodnocení. Neznámé faktory vlivu

c) kontrolované experimentální studie, klinické studie – přísná etická omezení

Léčiva – klinické studie na lidských dobrovolnících

Etická hlediska, mikrodávky, velká omezení.

Informovaný souhlas dobrovolníka

Jiné látky – experimentální studie na zvířatech

Předpisy testování:

- Český lékopis (léčiva, zdravotnické potřeby)
- „OECD Guidelines for Testing of Chemicals"

Směrnice určují, jaká zvířata, v jakém počtu použít pro určitý test, jaká dávka, jaký způsob aplikace

Cílem je harmonizace, zobecnění výsledků studií

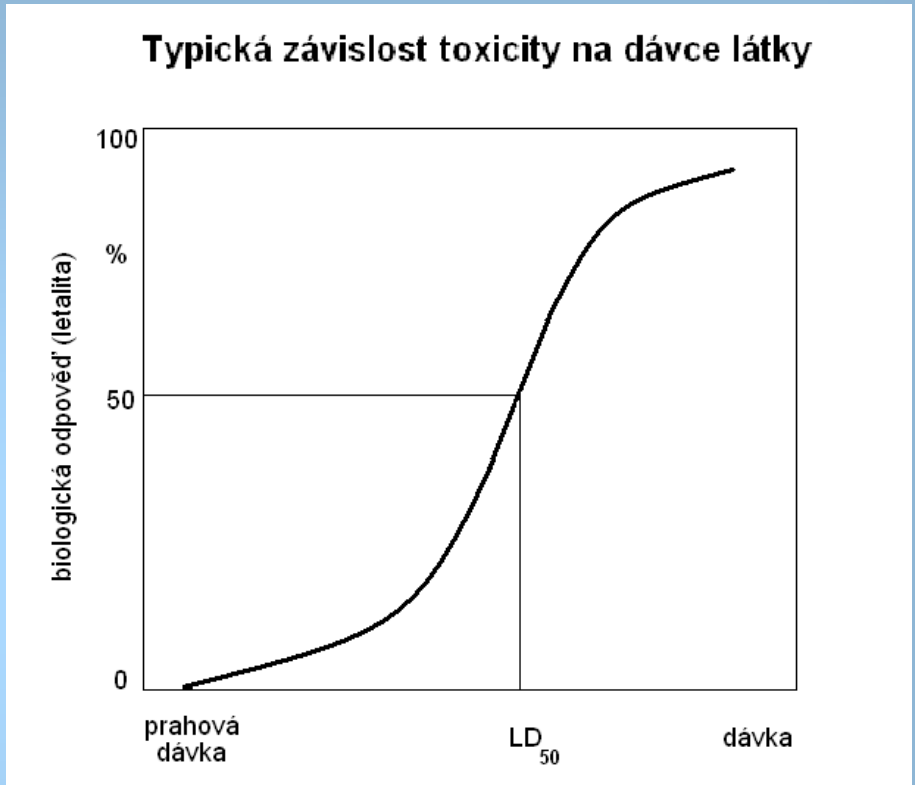
Jaké zvíře ? – co nejblíže lidskému modelu

Velikost zvířat – opakovaný odběr vzorků – cena studie

Exper. studie toxicity:

a) krátkodobé

b) dlouhodobé



Účinek vs. dávka:

nelineární vztah, semilogaritmická závislost

(účinek vs. log dávky)

(toxicita vs. log dávky)

LD_{50}-střední letální dávka

Terapeutický index léčiva

Efektivní dávka ED – Toxická dávka TD

T-INDEX = LD50 / ED50

vyšší hodnota, vysoká toxická dávka –

tj. bezpečnější lék

tj. menší riziko otravy

Klasifikace toxických látek podle velikosti LD_{50}

Chemická látka	LD_{50}
Supertoxická	méně než 5 mg/kg
Extrémně toxická	5-50 mg/kg
Vysoce toxická	50-500 mg/kg
Středně toxická	0,5-5 g/kg
Málo toxická	5-15 g/kg

LD_{50} pro člověka při perorálním podání – např:

Chemická látka	LD_{50} (mg/kg)
Ethanol	7000
Chlorid sodný	3000
Morfin	900
Fenobarbital	150
Strychnin	2
Nikotin	1
Dioxin (TCDD)	0,01
Botulotoxin	0,00001

Zdroj: J. Patočka, Vojenská toxikologie 2004

Krátkodobé studie toxicity

- Akutní toxicita – LD_{50} -
  histologické vyšetření orgánů
- Subchronická toxicita, zahrnuje např. akumulaci jedu, opakované dávky po dobu 10% života laboratorního zvířete
- Lokální účinky na kůži, oči (mýdla, oftalmologika) – králík, morče, myš - testy dráždivosti
- Teratogenita, embryotoxicita – podávání samicím po dobu gravidity, histologické vyšetření měkkých tkání plodu, vyšetření skeletu
- Reprodukční toxicita, podání rodičovskému páru, sleduje se velikost vrhu, velikost mláďat, po odstavení, pitva rodičů, histopatologické vyšetření reprodukčních orgánů

Dlouhodobé studie toxicity

- Kancerogenita – opakované dávky, 3 velikosti,
  18-24 měsíců, hematologické vyšetření, pitva a histopatologické vyšetření
  Chemická struktura látky vs. kancerogenita
  Různá citlivost zvířat k chemické indukci tumorů

- Chronická toxicita – minimální doba 12 měsíců
- Hlodavec
- Nehlodavec (pes, primát)

Individuelní vnímavost toxicity

Variabilita – hlavně geneticky podmíněná (genotypy)

- **mezidruhově**
- **uvnitř živočišného druhu**

Fyziologické a časové vlivy (pohlaví, věk, choroby…..)

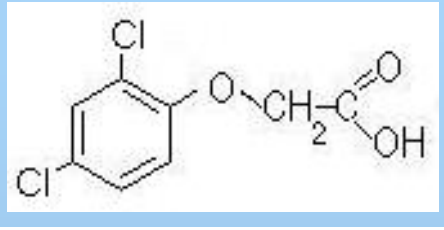
Variabilita metabolické kapacity enzymů

Polymorfismus enzymů, alternativní formy, izoenzymy

Alkohol	Minimální i. v. letální dávka (g/kg)	
	Králík	Kočka
Methanol	15,9	4,7
Ethanol	9,4	3,9
Propanol	4,0	1,6
Izobutanol	2,6	0,72
Izoamylalkohol	1,6	0,21

(R. T. Williams, 1959)

Mezidruhová vnímavost toxicity kyseliny dichlorfenoxyoctové



LD_{50} herbicidu 2,4-D - p. o.	
Živočišný druh	*(mg/kg)*
Myš	360-710
Potkan	900-1500
Morče	400-800
Králík	420
Pes	100
Opice	214

(J. Patočka, Vojenská toxikologie 2004)

Mezidruhová variabilita metabolismu Konjugace fenolu

	Vylučovaný podíl (%) glukuronid	Vylučovaný podíl (%) sulfát
Kočka	0	87
Člověk	23	71
Potkan	25	68
Králík	46	45
Prase	100	0

Mezidruhová variabilita metabolismu Konjugace kyseliny benzoové

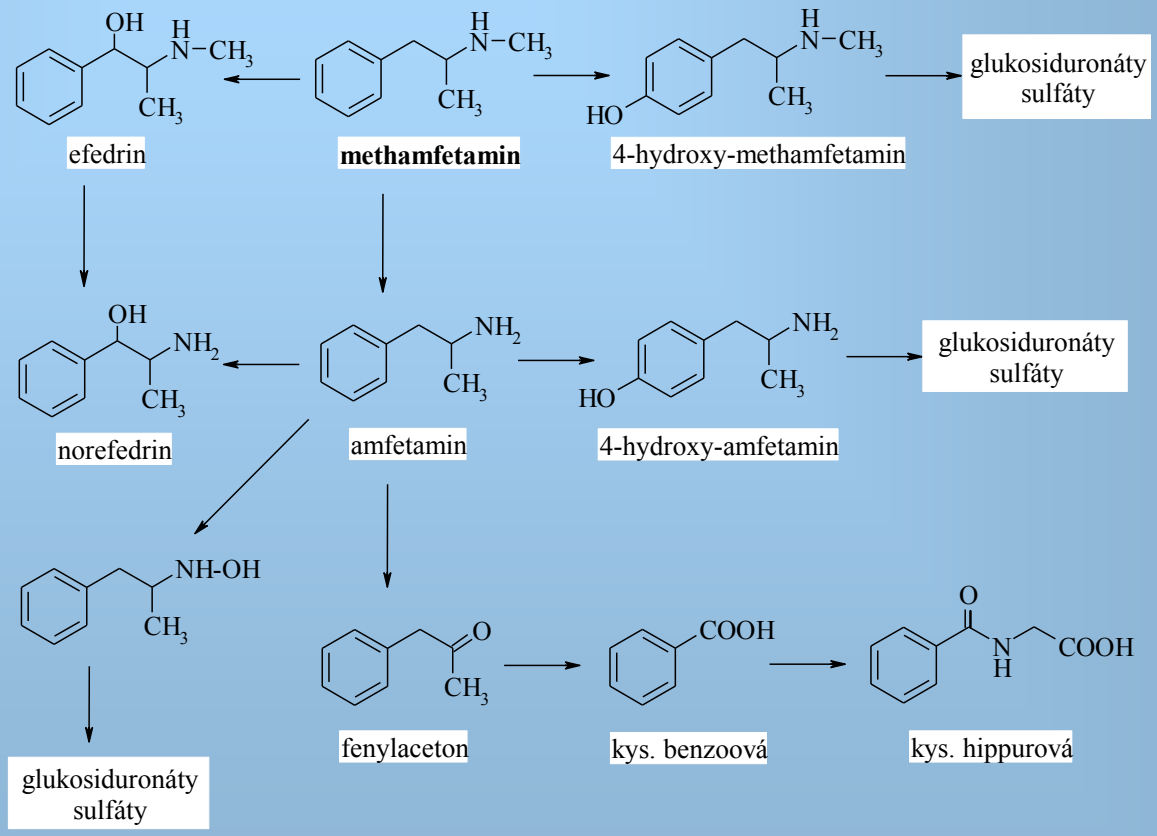
Živočišný druh	Dávka p. o. (mg/kg)	Eliminace dávky močí za 24 hod (%)	Podíl dávky v moči za 24 hod		
			k. benzoová (%)	k. hippurová (%)	benzoylglukuronid (%)
Myš	56	55		95	5
Potkan	50	100	1	99	
Křeček	52	99	1	97	
Králík	49	60		100	
Prase	50	49	15	85	
Kočka	51	30		100	
Pes	51	94		82	18
Šimpanz	20	47		100	
Člověk	1	100		100	
Člověk	42			50-85	

(Zdroj: R. R. Scheline, 1978)

Mezidruhová variabilita metabolismu methamfetaminu

Člověk: amfetamin, 4-OH-amfetamin a konjugace, dále oxidativní deaminace až kys. hippurová

Králík: amfetamin, oxidativní deaminace; ale redukce fenylacetonu, výsledný alkohol je vylučován konjugovaný močí



Genetická variabilita metabolismu uvnitř druhu

Experimentální podání antipyrinu, eliminační rychlost:

a) jednovaječným (geneticky identickým) dvojčatům – nalezena stejná eliminační rychlost antipyrinu

b) dvouvaječným dvojčatům – nalezena rozdílná eliminační rychlost antipyrinu

Genetická variabilita metabolismu uvnitř druhu - fenotypy

Studie oxidace antihypertenziva debrisoquinu, tvorba 4-hydroxylovaného metabolitu

V populaci zjištěny 2 fenotypy v tvorbě metabolitu:

- Extenzivní metabolizéři - většinová studovaná populace
- Chudí metabolizéři – asi 8 % studované bělošské populace, u Arabů asi 1-2%

(Fenotyp – variabilita alel příslušného enzymu, variabilita tvorby metabolitu vzhledem k pův. formě)

Genetická variabilita toxicity

Př. isoniazid (léčba tuberkulózy)

Genetický polymorfismus N-acetylace, metabolit je polárnější, rychleji vylučován

Evropané: 40% populace rychle acetyluje

Asiaté: 80% populace rychle acetyluje

Eskymáci: 96% populace rychle acetyluje

Acetylační fenotyp individua určuje toxické projevy:

- neuropatie při pomalé acetylaci
- hepatotoxicita při rychlé acetylaci

(Zdroj: R. J. M. Niesink et al. 1996)

Variabilita toxických projevů –

Sekvence procesů, interakce s makromolekulami, narušování fyziologických procesů – změna toxicity

Faktory ovlivňující toxické projevy, dynamiku:

1) Chemické vlivy, struktura látky
2) Genetické faktory
3) Fyziologické faktory (sex, věk, zdravotní stav)
4) Toxikokinetické faktory
5) Vnější faktory, dieta, prostředí, životní styl

Toxicita - fyziologické aj. faktory

- Sexuální rozdíly – hormonální vlivy, rozdíly v enzymové kapacitě (biotransformace ethanolu), izoenzymové zastoupení u žen a mužů (např. P450)
- Věkové rozdíly, vývoj enzymové aktivity specifickým způsobem, vzrůst a pokles (aromatická hydroxylace, N-demethylace, schopnost tvorby glukosiduronátů….) Perinatální vývoj některých aktivit II. fáze (acetylace, konjugace s glycinem…)
- Zdravotní stav, životní styl, dieta
- Chronické, opakované dávky – buněčné změny, adaptace receptorů (alkoholismus, návykové látky, tolerance)
- Spolupůsobení látek - indukce a inhibice enzymů
- Vnější vlivy

Pamatuj!

Intoxikace člověka náhodná či chronická –

není

klinická či experimentální studie

Působí neznámé faktory mimo kontrolu

Nedostatek anamnestických informací

Individuelní životní styl