

KBB/TOX – Toxikologie

(pro navazující studium)

Radim Vrzal

Katedra buněčné biologie a genetiky

Principy toxikologie

- Definice pojmů
- DOSE-response
- ADME
- Klasifikace toxických sloučenin
- Tkáňová toxicita
- Karcinogeneze

Toxikologie

Toxikologie – studium nepříznivých účinků jedů na lidi, zvířata a prostředí (dle Society of Toxicology, <http://www.toxicology.org/>)

Jed = Chemický, fyzikální, biologický činitel

Toxický = nežádoucí, nepříznivý

Toxicita – sekvence událostí (expozice, distribuce, metabolismus, interakce s intracelulárními molekulami) → řeší „Toxikolog“



„ All things are poison and nothing is without poison, only the dose permits something not to be poisonous.“ – Paracelsus, Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim – 1493-1541)

Toxikologie

Akutní toxicita – toxické účinky které se vyskytnou během 24 h

Subchronická toxicita – určení možného kumulativního účinku na tkáně a metabolismu během několika měsíců až 1 roku (většinou cca 90 dní)

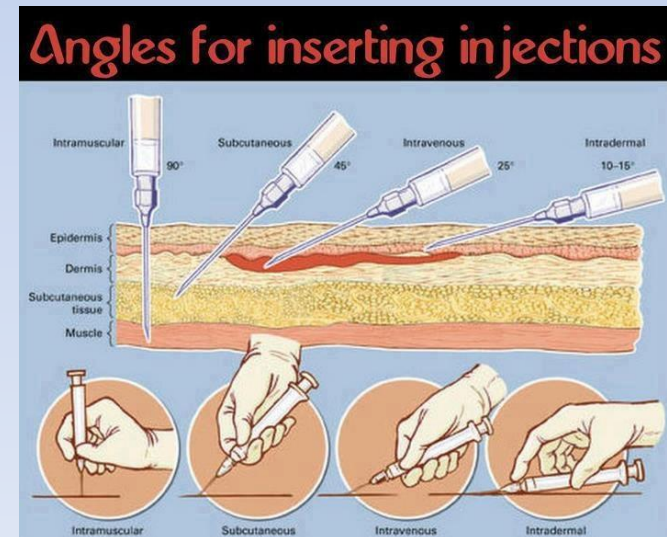
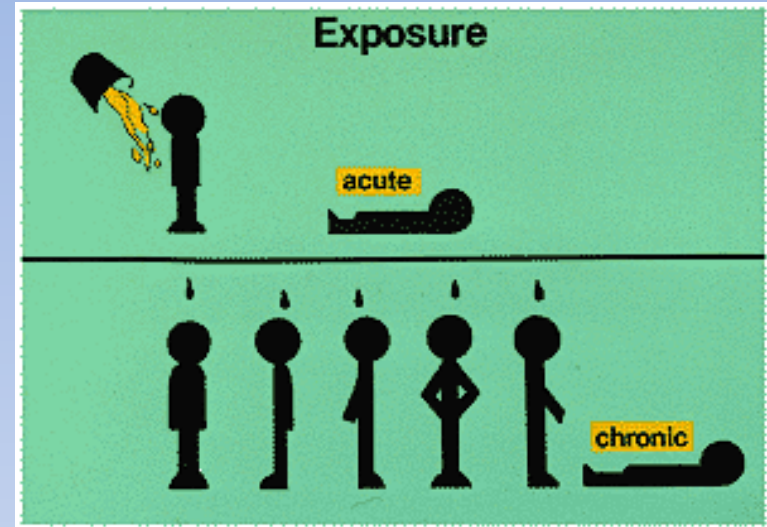
Chronická toxicita – nepříznivé účinky vyskytující se po delší dobu expozice toxickému činidlu (u zvířat obvykle po celou dobu jejich života)

Perorální – vstup skrze GIT

Intravenosní – vstup skrze injekci do žíly

Intramuskulární – vstup skrze injekci do svalů

Intraperitoneální – vstup skrze injekci do abdominální dutiny/tekutiny



Členění toxikologie

Klinická toxikologie – prevence/diagnóza/zvládnutí otrav v nemocnicích

Forenzní toxikologie – analýza biologických vzorků na přítomnost léčiv či toxických látek ve vztahu s prosazováním práva

Pracovní toxikologie – identifikace látek ve vztahu k pracovnímu prostředí, definice podmínek pro bezpečné užívání a prevence absorpce škodlivých množství

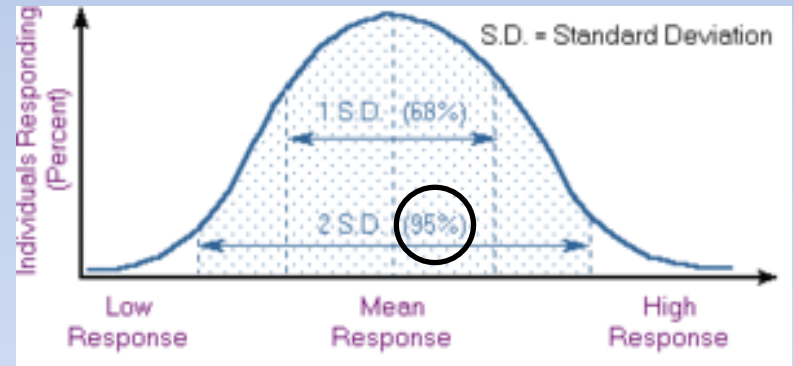
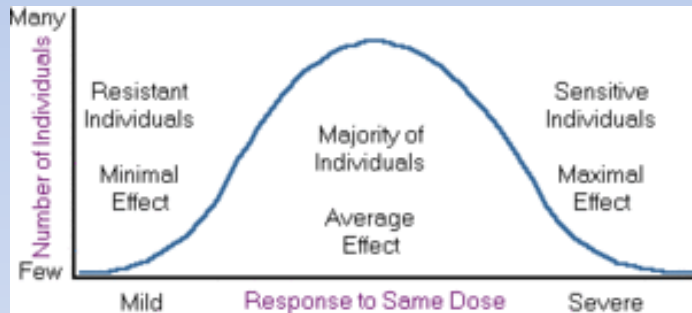
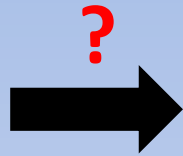
Environmentální toxikologie – škodlivé vlivy látek na živé organismy, zvířata a lidi

Regulační toxikologie – sběr/zpracování a zhodnocení dat za účelem ochrany člověka před škodlivými účinky chemických látek

Ekotoxikologie – zabývá se dopadem na populace živých organismů uvnitř definovaného ekosystému

Potravní toxikologie (Toxikologie potravin) – výskyt a dopad toxických látek přítomných v potravě

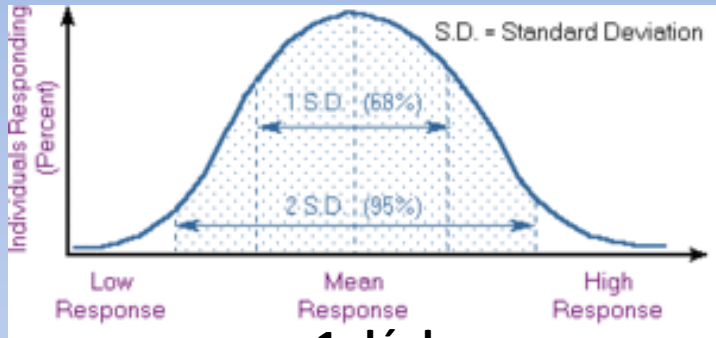
Kvantitativní pojetí – dávka-odpověď (Dose response)



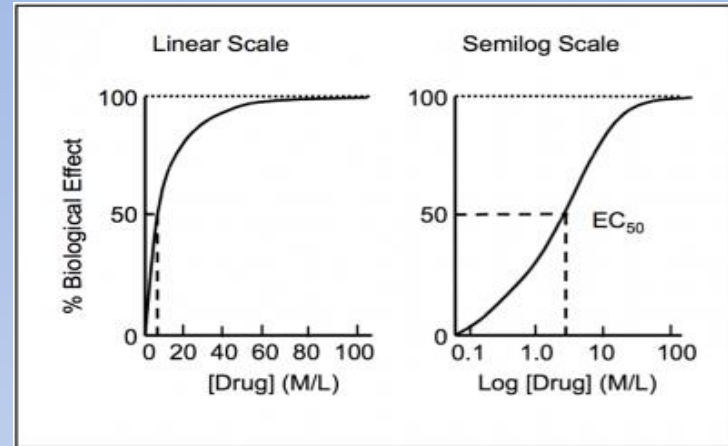
- Odpověď na jednu dávku !!!!

- Velikost dávky určuje účinek
- Vzniká nejistota

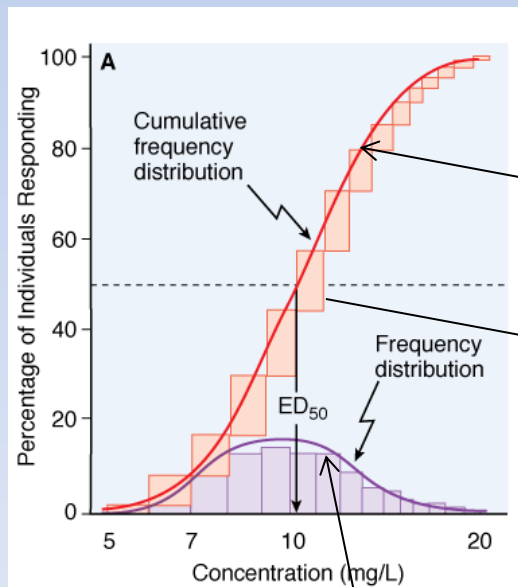
Kvantitativní pojetí – Dose response



1 dávka



Více dávek



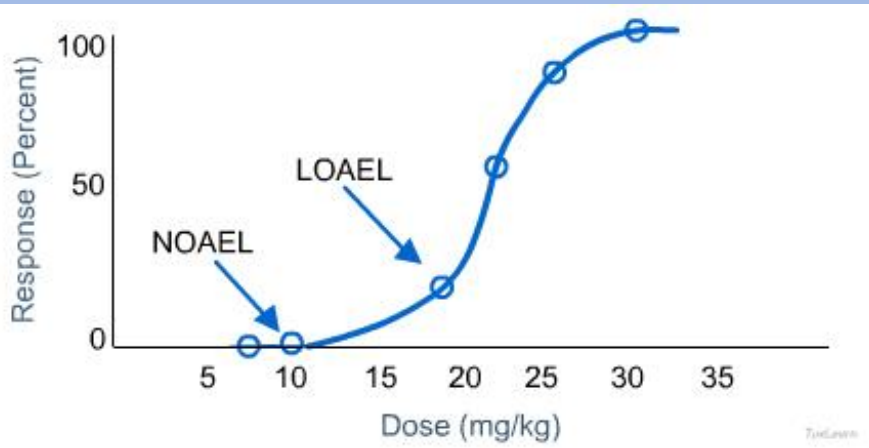
- Převod distribuce frekvence výskytu účinku na kumulativní distribuci frekvence pro různé dávky (koncentrace)

- **Kvantová dose-response = % jedinců proti logaritmu dávky (sigmoida)**

→ Střední hodnota (průměr) ± (2) SD → 95% populace bude reagovat na danou dávku tímto způsobem

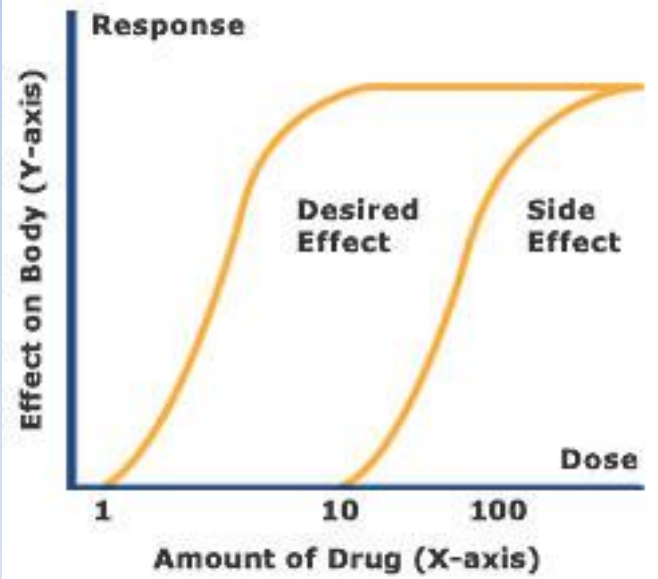
- **Normální distribuce pro populaci**

Kvantitativní pojetí – Dose response

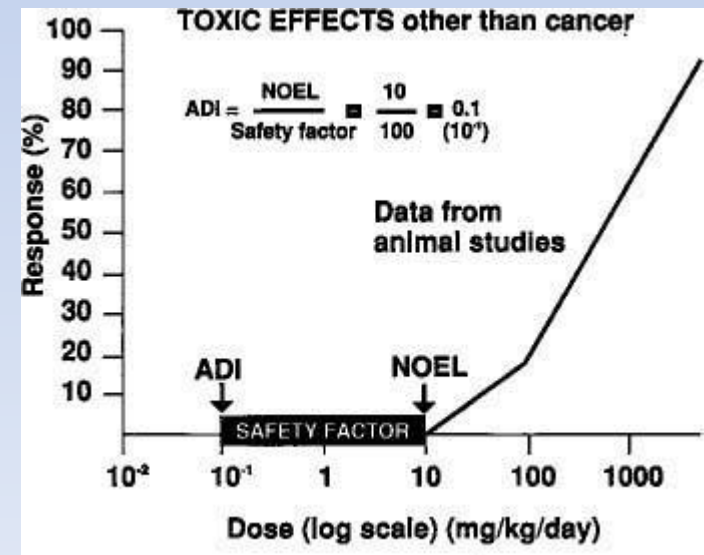


- **NOAEL** – nejvyšší koncentrace, kde není pozorován toxický účinek
- **LOAEL** – nejnižší dávka, pro kterou byla pozorována toxicita

ADI (acceptable daily intake) – odhad hladiny denní expozice sloučeniny o které se očekává že je bez nežádoucího dopadu na lidské zdraví.

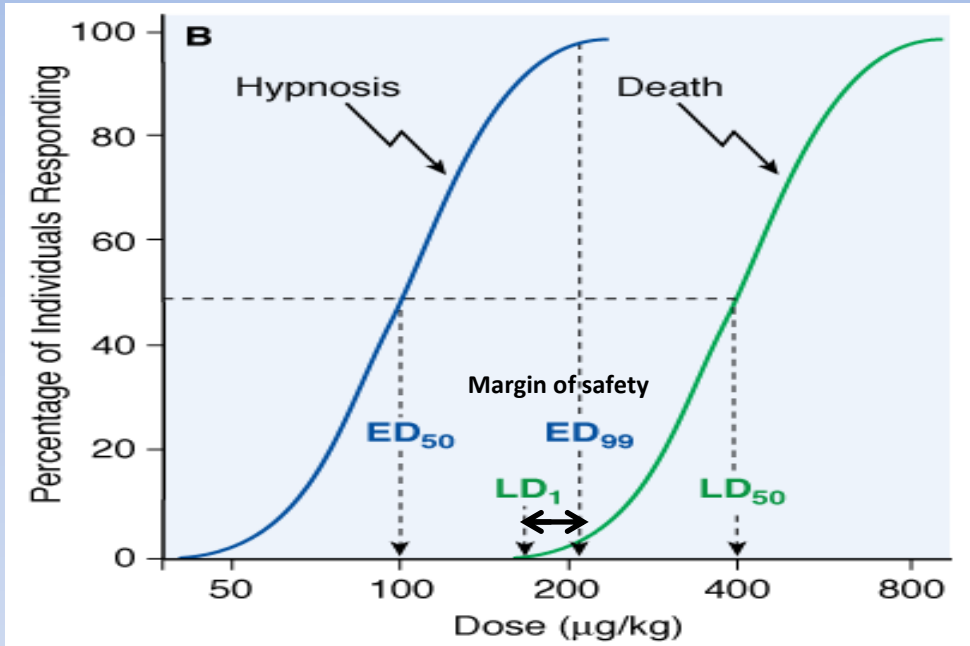


Pro potravní doplňky, průmyslově využívané látky, apod.



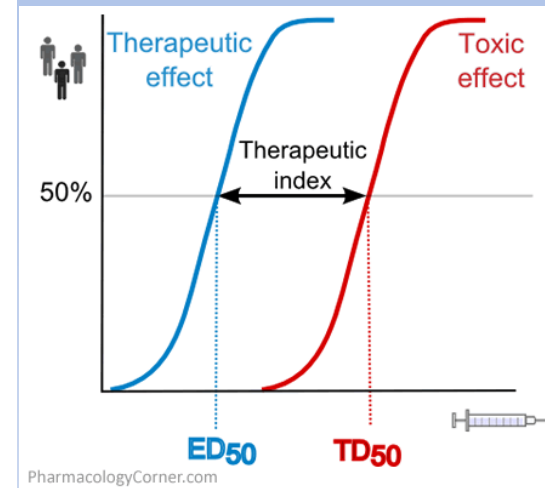
Kvantitativní pojetí – Dose response

Morfin



ED = účinná dávka (efficient dose)

LD = smrtelná dávka (lethal dose)



TI – terapeutický index

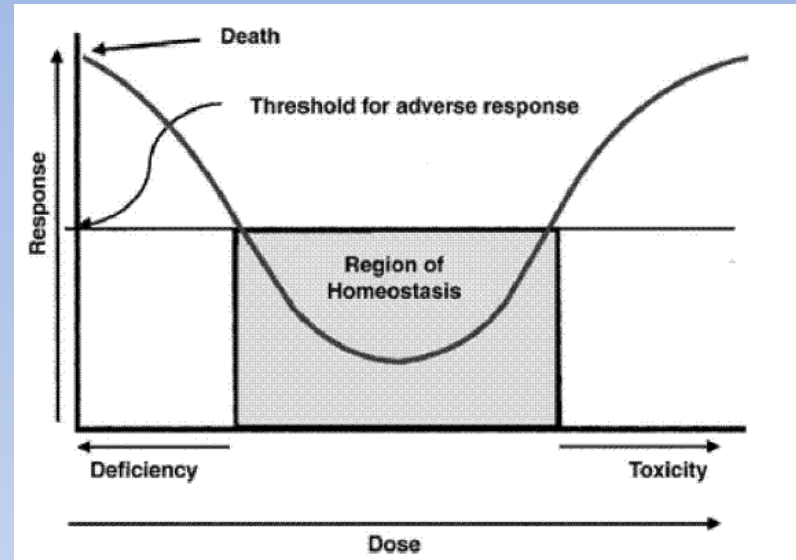
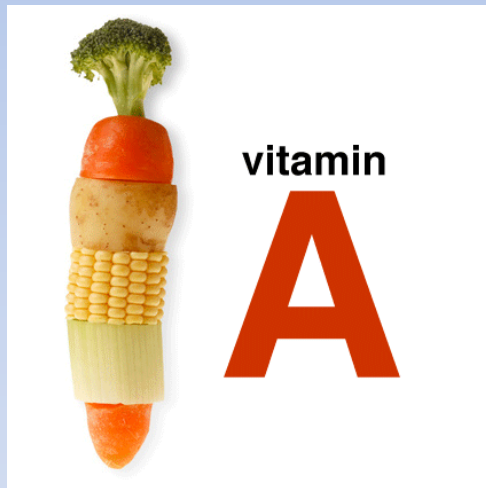
$$TI = LD_{50}/ED_{50}$$

MS – „rozpětí bezpečnosti“

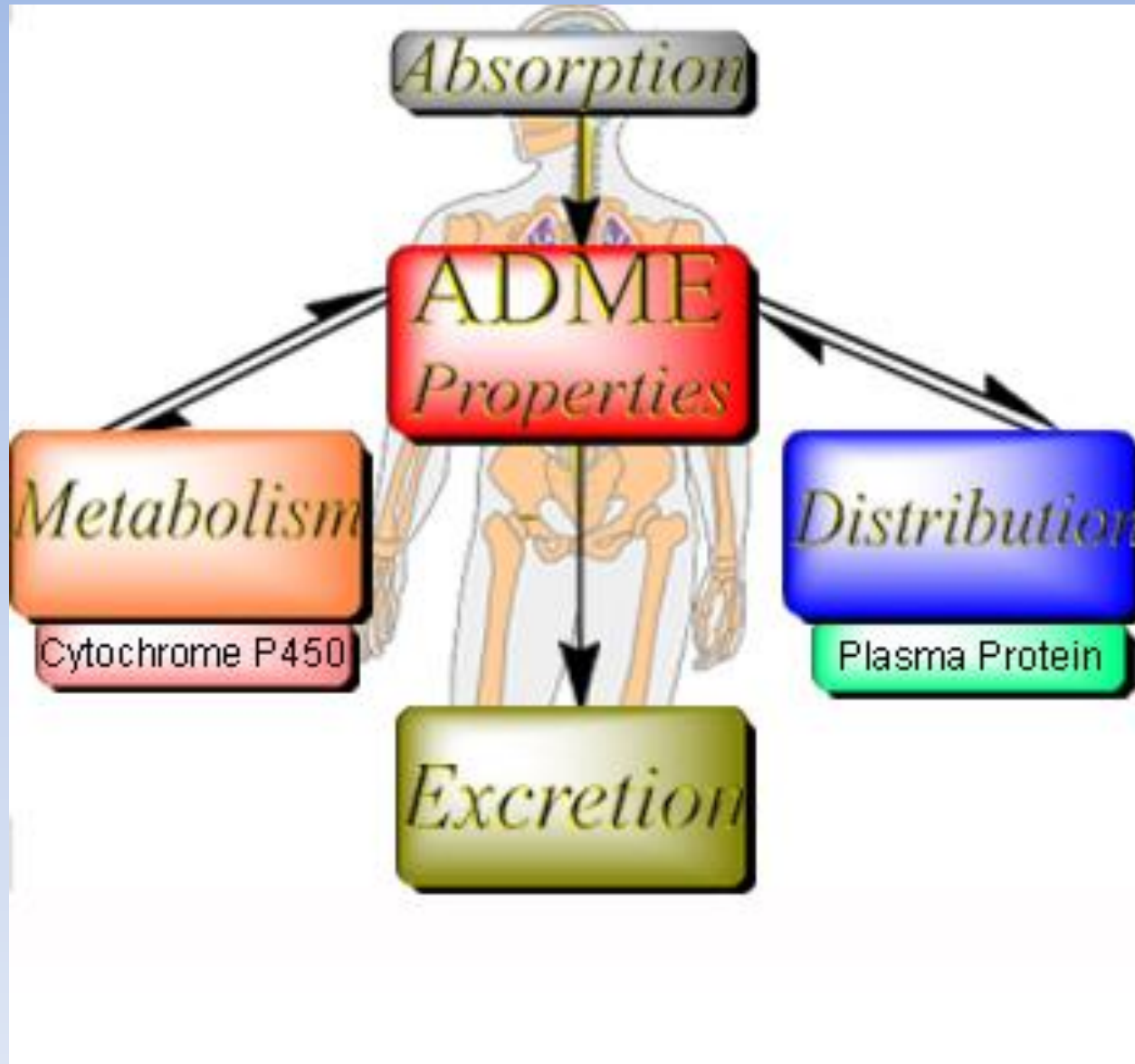
$$MS = LD_{1}/ED_{99}$$

Kvantitativní pojetí –Dose response

Hormese – prospěšný účinek při nízké dávce a toxický při vysoké



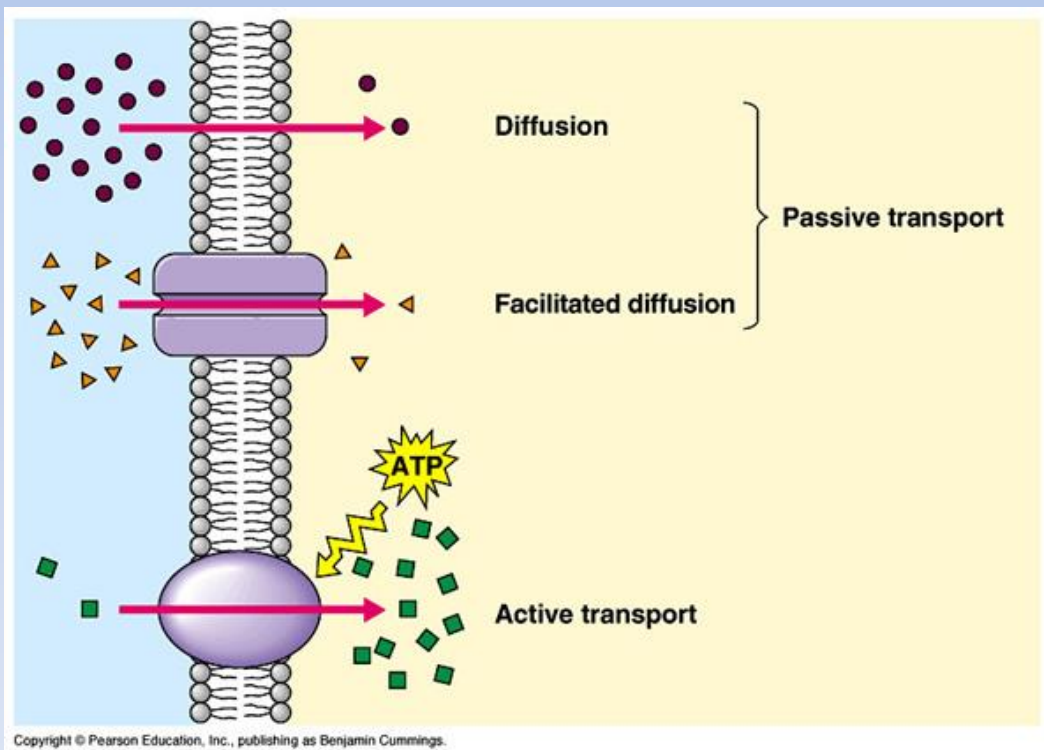
Faktory ovlivňující toxicitu (ADME)



Faktory ovlivňující toxicitu (ADME)

Absorpce – vstup přes lipidové dvojvrstvy membrány

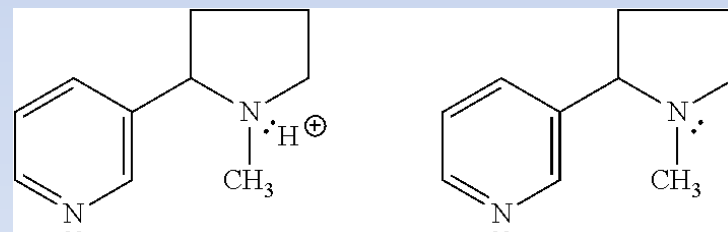
- **difúze** (jednoduchá) – lipofilita
- **usnadněná difúze** (zprostředkovaná transportéry)
 - ionizace (Henderson-Hasselbachova rovnice)
- **aktivní transport**



$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{nonprotonated species}]}{[\text{protonated species}]}$$

$$\text{For acids: } \text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

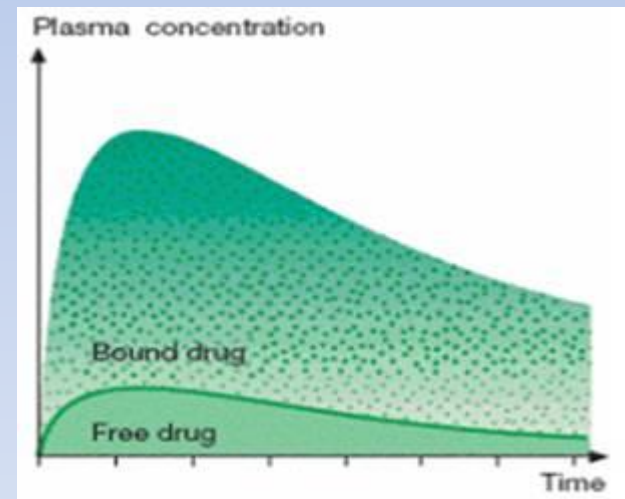
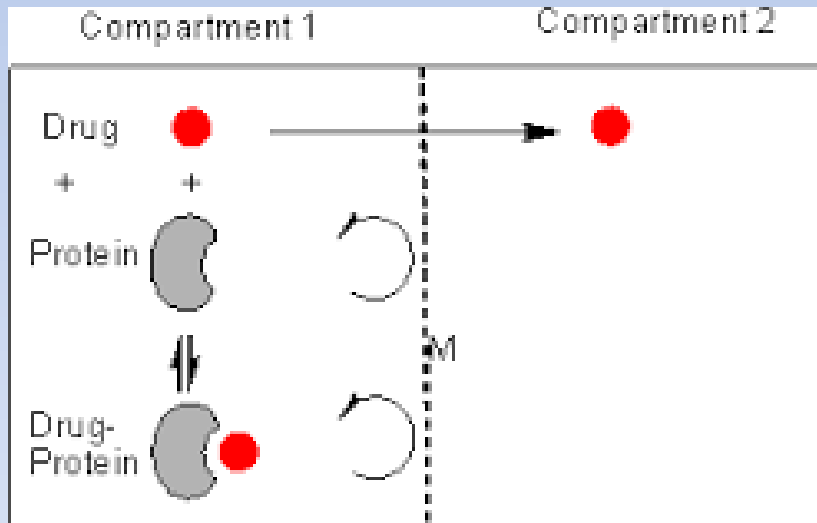
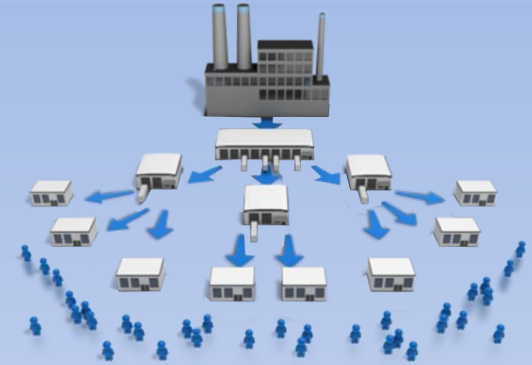
$$\text{For bases: } \text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{B}]}{[\text{BH}^+]}$$



Faktory ovlivňující toxicitu (ADME)

Distribuce – výsledné rozmístění xenobiotik do tkání

- Vazba na proteiny
- Afinita k tukům (DDT, sodium thiopental)
- Afinita k specifickým tkáním
(kostní tkáň – Sr, Ra, F; játra, ledviny – Cd²⁺)



Faktory ovlivňující toxicitu (ADME)

Biotransformace - živým systémem katalyzovaná chemická konverze

Fáze I. – oxidace, hydrolýza, redukce, dealkylace

Fáze II. – konjugace

„Fáze III.“ - transport

Fáze I. – CYP1A1/1A2/2A6/2B6/2C9/2D6/2E1/3A4,
FMO, Alkohol dehydrogenáza, atd.

Fáze II. – UGT1A1/1A4/1A6/1A9/2B7/2B10/2B15/2B17,
SULT1A1/1E1, GSTA1/M1/T1, NACT, atd.

„Fáze III.“ – OATPs, MDRs, atd.

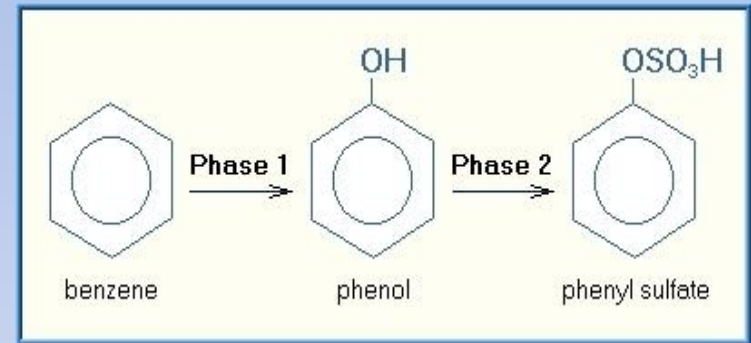
Regulace - transkripčně – AhR/PXR/CAR/GR/VDR/HNF4a1, atd.

- post-transkripčně – UGT1A1/CYP1B1 – pomocí miRNA

- post-translačně – UGT2B7 - glykosylace

- **stabilizací substrátem** – CYP2E1

- **polymorfismy** – CYP2D6, atd.

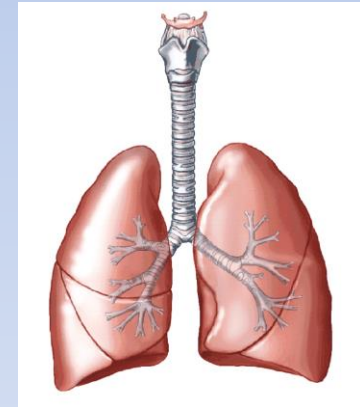
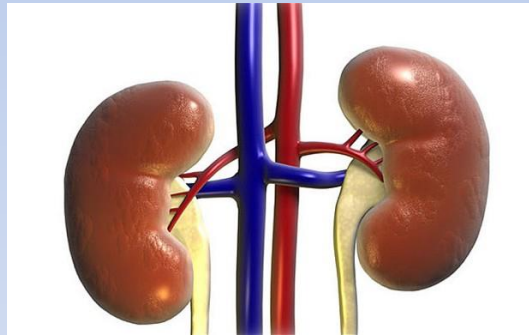
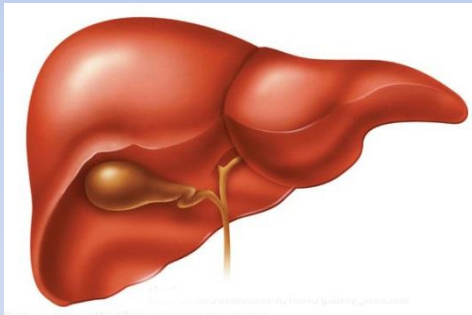


Faktory ovlivňující toxicitu (ADME)

Eliminace

- **játra** – do žluče
- **ledviny** – ve vodě rozpustné do moči
- **plíce** – těkavé (halothan)

- pokožka - těkavé
- sliny -
- mléko – lipofilní (DDT, pesticidy)



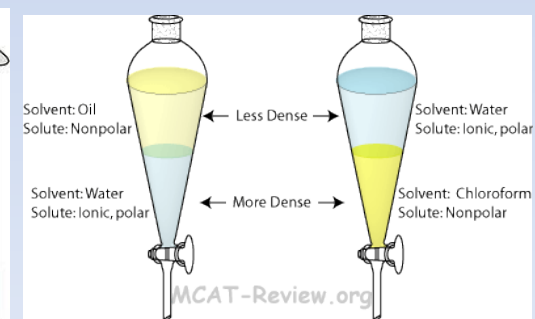
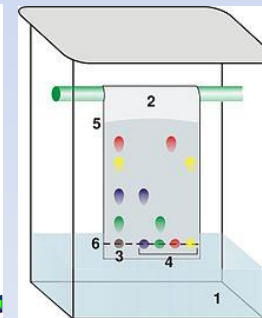
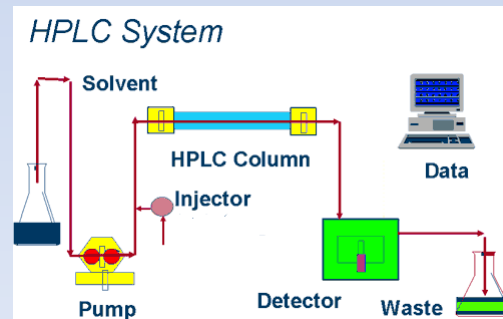
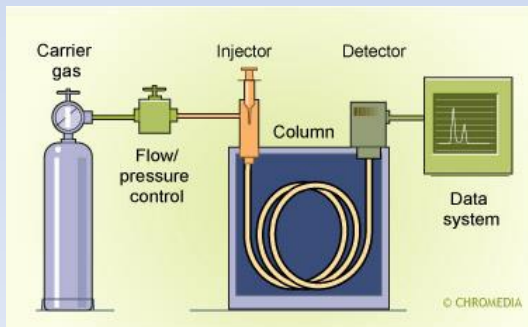
Toxikologie

Klasifikace toxických sloučenin:

- Dle cílového orgánu – např. nefrotoxikanty, endokrinní disruptory
- Dle použití či běžného místa výskytu – např. pesticidy, mykotoxiny
- Dle struktury – např. PAH, organofosfáty
- Dle mechanismu účinku – např. inhibitory AChE, induktory clearance

Stanovení toxických sloučenin:

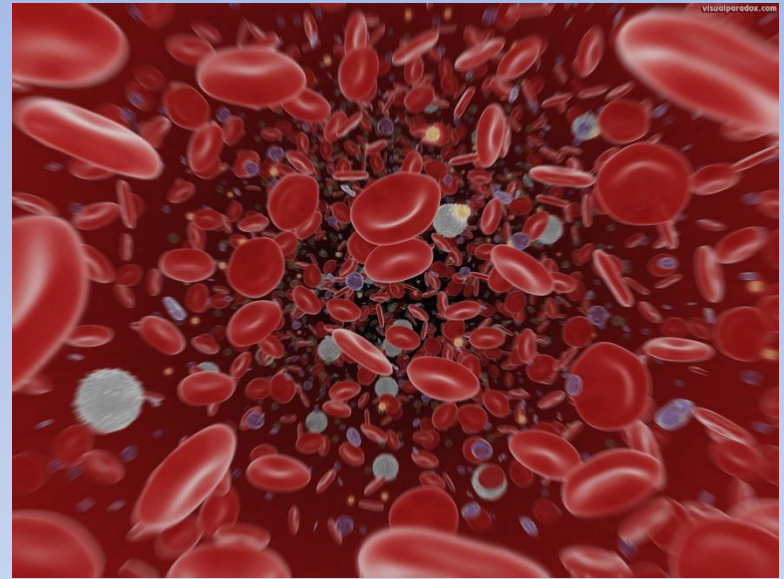
- GC
- HPLC
- TLC
- Extrakce, destilace



Tkáňově cílené toxicity


Hematotoxicita

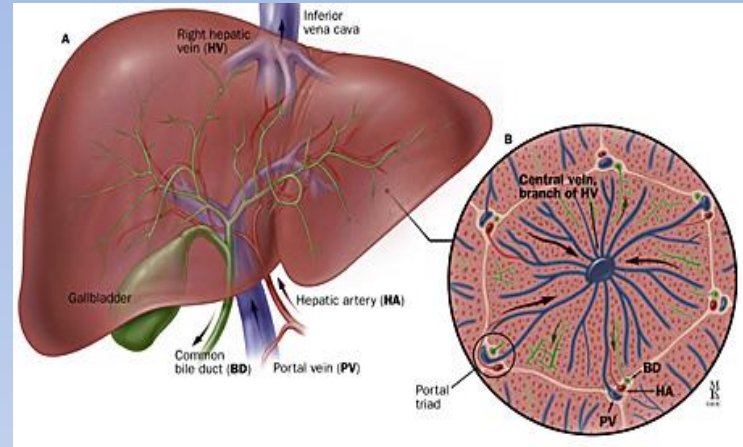
- **CO** – vazba na Hb – Terapie: hyperbarický kyslík
- **KYANID** – vazba na Hb – Terapie: Thiosíran sodný, dusitan sodný
- **H₂S** – vazba na Hb – Terapie: Amyl nitrit, dusitan sodný
- **Dusičnany/dusitany/chlorečnany** – tvorba MetHb – terapie: methylenová modř
- Léky potlačující funkci kostní dřeně – methyldopa, kyselina valproová, allopurinol
- **Warfarin** – inhibice tvorby faktorů srážlivosti – Terapie: vitamin K



Tkáňově cílené toxicity

Hepatotoxicita

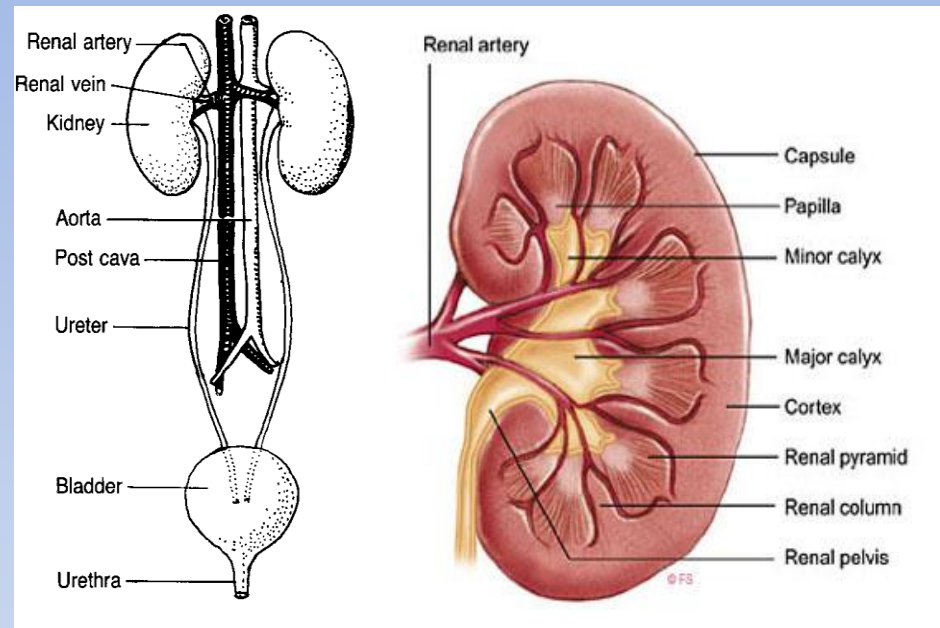
- **CCl₄** – peroxidace lipidů a vznik aduktů s DNA - Terapie: hyperbarický kyslík
- **EtOH** – induktor zánětu, tvorba ROS –
Terapie: 
- **Bromobenzen** – tvorba epoxidů a kovalentních aduktů – Terapie: ???
DMSO???
- **Acetaminofen** - tvorba kovalentních aduktů – Terapie: N-acetylcystein



Tkáňově cílené toxicity

Nefrotoxicita

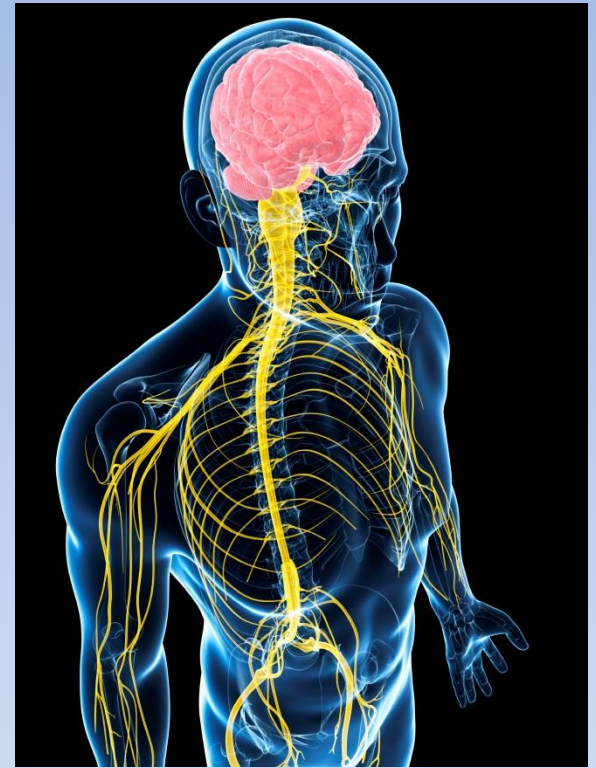
- **kovy** – Cd, Hg, Pb - vazba na SH skupiny proteinů – Terapie: EDTA,
- **Aminoglykosidy** - streptomycin, kanamycin, neomycin – vazba na aniontové fosfolipidy v membráně – Terapie:
- **CisPlatina** – tvorba aduktů s DNA
- **CCl4**



Tkáňově cílené toxicity

Neurotoxická

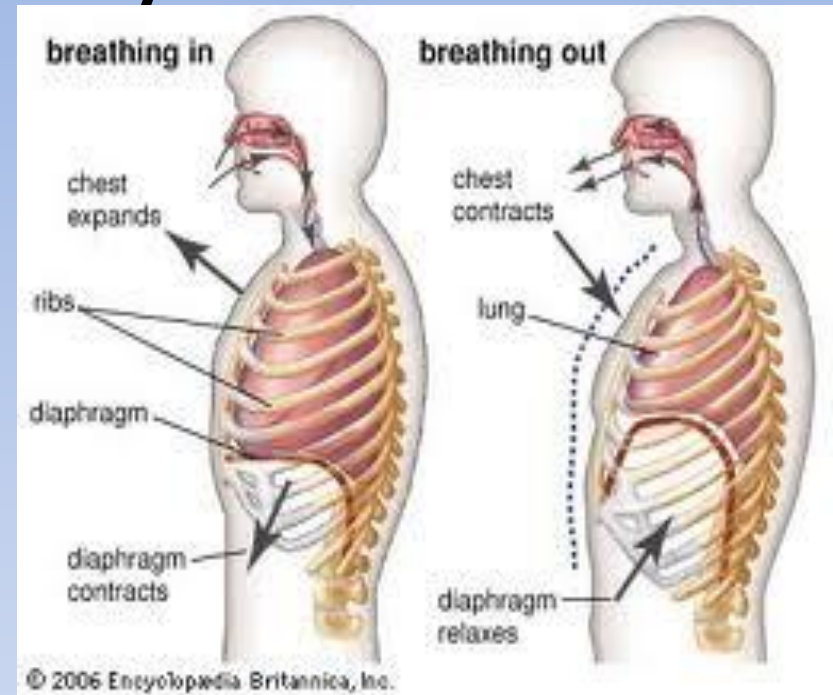
- **MPTP** – vznik ROS a energetická krize → parkinsonismus
- **Vinca Alkaloidy** – disrupce mikrotubulů
- **Hexan** – tvorba aduktů s neurofilamenty
- **Glutamát** – aktivace signálních drah nadbytkem Ca^{2+}
- **Organofosfáty** (Parathion, Methylthion) – inhibice AChE –
Terapie: Atropin + oximové sloučeniny
- **Karbamáty** (Carbaryl) - inhibice AChE - Terapie: Atropin +
oximové sloučeniny
- **Botulin** – inhibice uvolnění acetylcholinu
- **Tetradotoxin** – inhibice Na^+ kanálů



Tkáňově cílené toxicity

Pulmonotoxicita

- **Azbest, Al prach** – fibróza, rakovina
- **NH₃, Cl₂** - dráždění, edém či infekce
- **Kouření** – vznik aduktů a ROS
- **Ipomeanol** – poškození plic u dobytka
- **Spóry hub na vlhkém seně** – chronická bronchitida
- **Paraquat** – peroxidace membrán



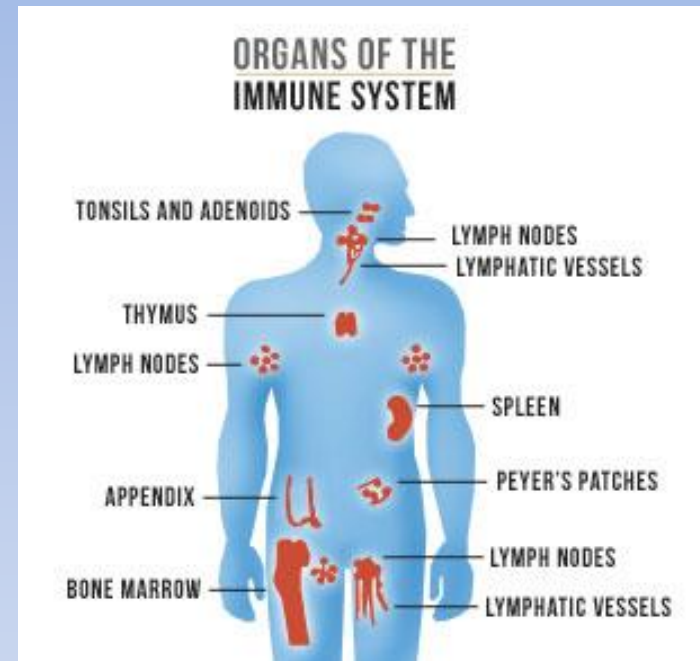
Tkáňově cílené toxicity

Imunotoxicita

- **Hypersensitivita** – poškozuje imunitní systém (alergie)
 - TYP I. - Atopie – okamžitá reakce na alergen (včelí bodnutí)
 - TYP II. – tvorba nových antigenů např. léky
 - TYP III. – hromadění komplexů antigen-protilátka v tkáních
 - TYP IV. – aktivované T-lymfocyty aktivují makrofágy

- **Alergická kontaktní dermatitida** – pracovní problém – typ IV. – opakovaná expozice látkám v pracovním prostředí

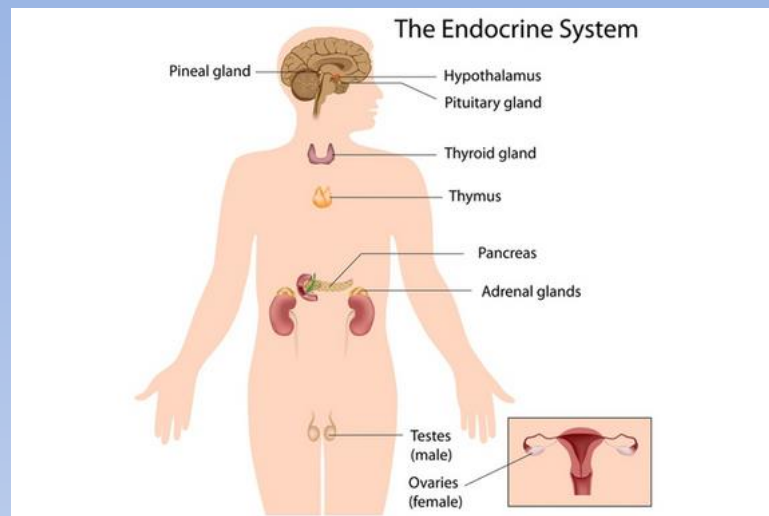
- **Respirační alergeny** - latex, prach



Tkáňově cílené toxicity

Toxicita endokrinního systému

- Receptorová teorie – **agonista/antagonista**
- **Diethylstilbestrol** – agonista ER → gynekomastie
- **Flavonoidy, PCBs** – antagonisté ER → defeminizace
- **Cimetidin, hydroxyflutamid** – antagonisté AR → demaskulinizace
- **Fadrozol, anastrozol** – inhibice Aromatázy
- **Fenobarbital** – induktor clearance

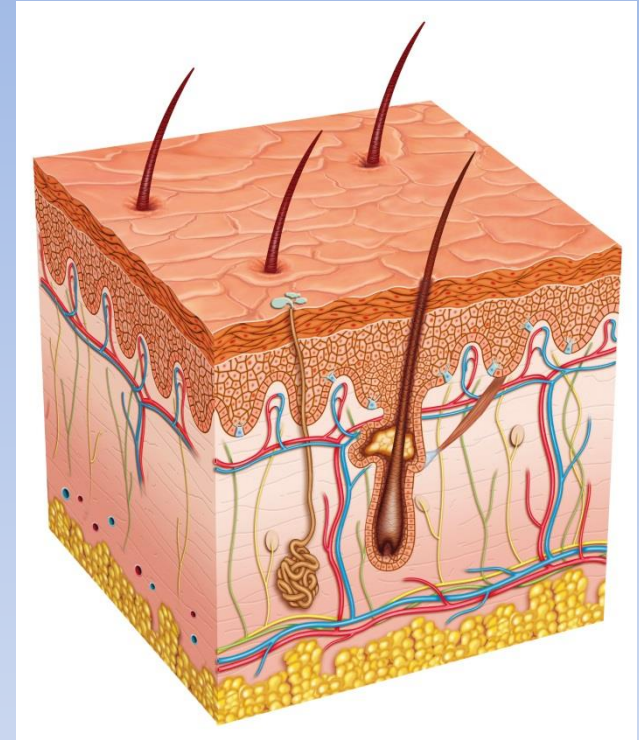


Tkáňově cílené toxicity

Dermatotoxicita

- **Kontaktní dermatitida**
 - iritační - např. kyseliny, zásady, organická rozpouštědla
 - alergická – typ IV. – kožené rukavice, krémy, šampóny – minimální množství !!!!

Patch test (epikutánní/kožní náplastový test) – k identifikace alergenů



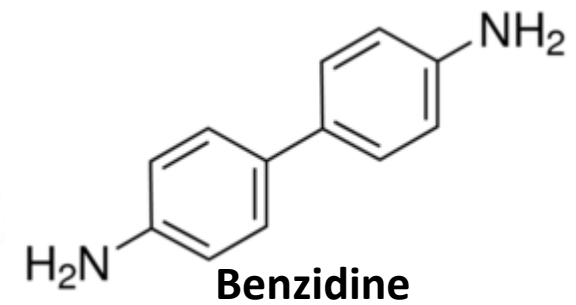
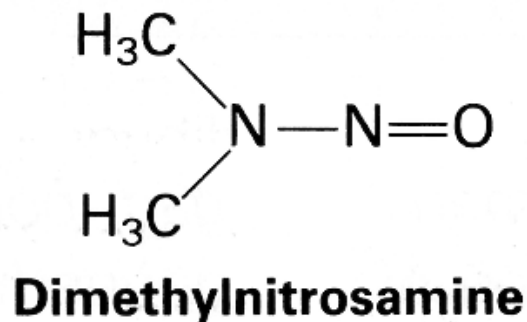
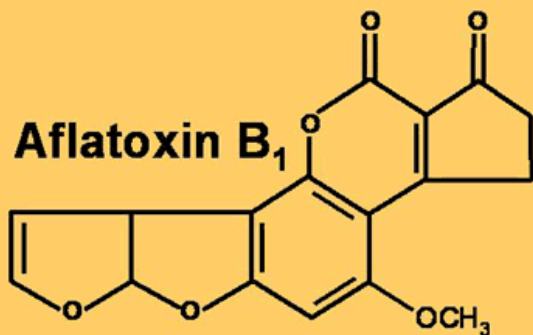
- Dioxiny → **Chlorakné**
- **Porfyrie** – dědičné
- **Urticaria** – aspirin
- **Poruchy pigmentace** – kovy, uhelný dehet, fenoly

Kancerogeneze

Rakovina – skupina chorob, kde buňky vykazují nekontrolovaný růst, invazi do ostatních tkání, kde případně vytvářejí nová místa nekontrolovatelného růstu (metastázování)

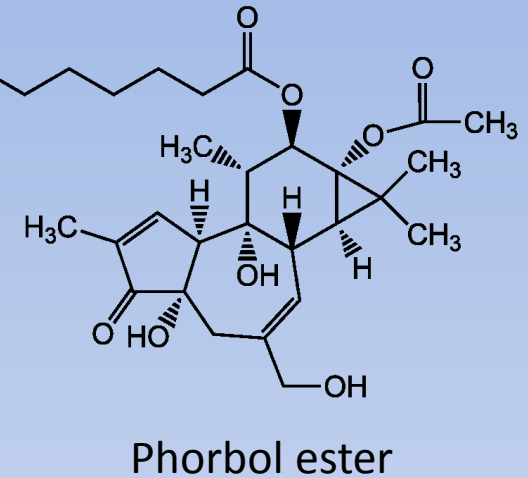
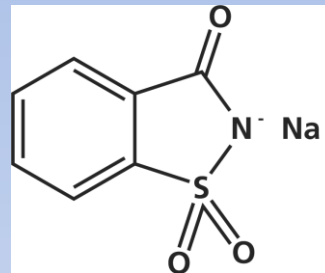
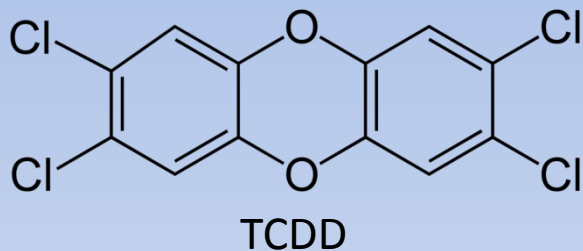
- věk + genotyp
- strava
- životní styl
- expozice exogenním sloučeninám/radiaci

Iniciace – mutace v jednom či více genech kontrolující proliferaci (onkogeny/ tumor supresory)



Kancerogeneze

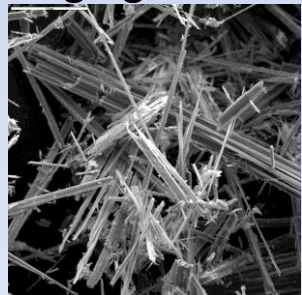
Propagace (Promotion) – indukce růstového posílení u iniciované buňky – epigenetický krok – mitogenní činidla



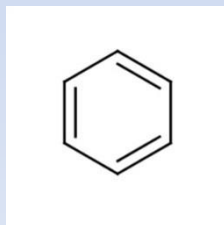
Postup (Progression) – nevratný krok mající za následek další stupeň nezávislosti tumoru, invazivitu, metastazování

- sekrece chemoatraktantů, faktorů

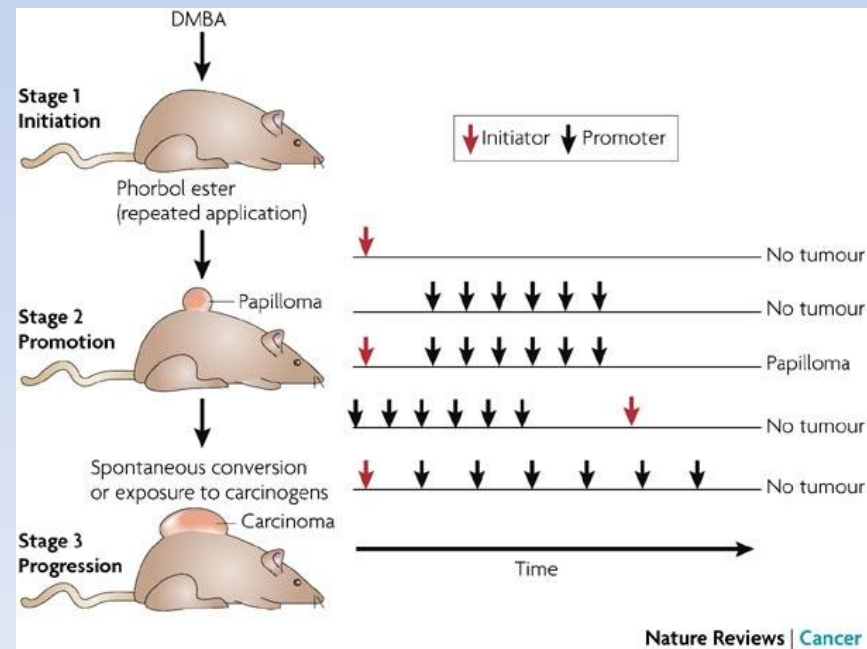
angiogeneze a proteáz



Vláčna azbestu



Benzen



Kancerogeneze

Dietní doporučení pro prevenci rakoviny (USDA, DHHS)

- snížení příjmu tuků na 30% kalorií či méně (tuk = propagátor)
- nárůst příjmu vlákniny na 20-30g/den
- zahrnout ovoce, zeleninu, fazole a celozrnné pečivo
- vyhýbat se obezitě
- umírněná konzumace alkoholu
- omezení nasolených, marinovaných, uzených potravin

2015 Dietary Guidelines Advisory Committee



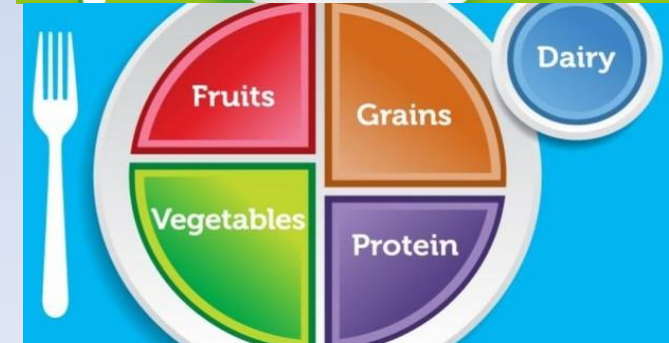
AGENDA AND
BACKGROUND MATERIALS

PUBLIC ORAL TESTIMONY

INVITED EXPERT
PRESENTATIONS

SUBCOMMITTEES

REFERENCE MATERIALS



Slovo závěrem....



Pomněnka lesní

(SK; **Nezábudka** lesná)

(DE; Das Vergissmeinnicht)

(EN; forget me not)



My worst
enemy
is my
memory.