

Základy Toxikologie

KBB/ZTOX



doc. Ing. Radim Vrzał, Ph.D.



Orgánová toxicita I.

Hemato- a Hepatotoxicita



Cíle:



- ✗ Funkční a anatomické charakteristiky krve a jater
- ✗ Škodliviny působící na krev a játra



Klíčové pojmy:

Oxid uhelnatý, paracetamol, ethanol, dusičnany

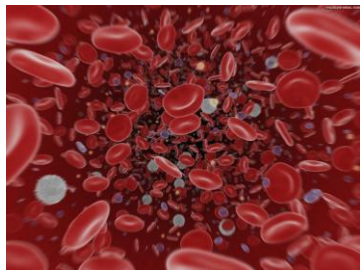


HEMATOTOXICITA





Hematotoxicita



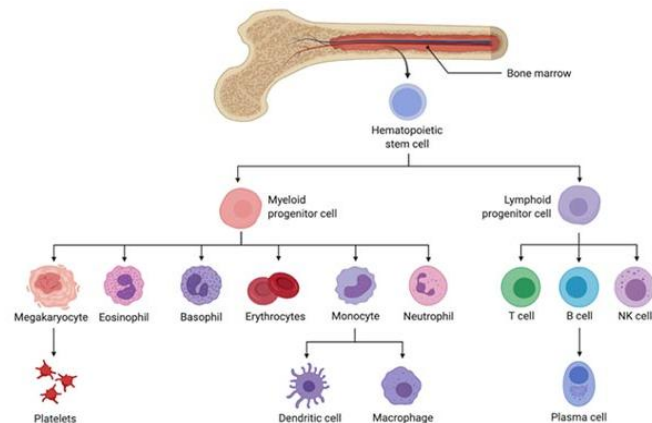
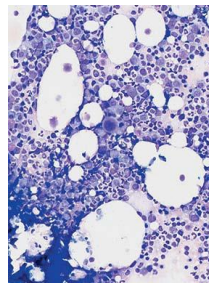
- **Studium nepříznivých účinků na krev a krvetvorné tkáně**
- **Krev zajišťuje** - přenos dýchacích plynů
 - produkci Erytrocytů, Trombocytů, Leukocytů
- **Historie** - Středozemní moře – favismus
 - Studniční voda s nitráty / dusičnany – methemoglobinemie



Hematopoesa

Kostní dřeň = Gelovitá tkáň - dutina kosti

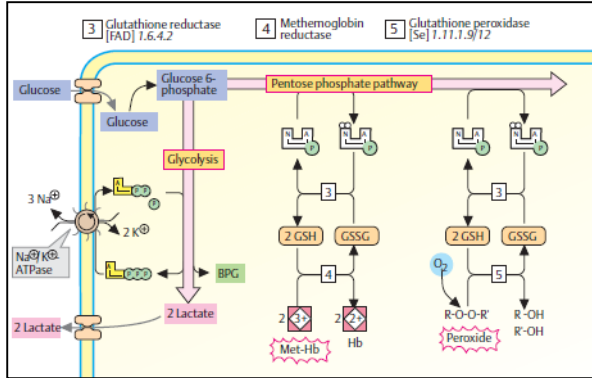
- v dospělosti – lebka, obratle, rameno, pánevní a hrudní kost
- stroma (fibroblasty, makrofágy, ..)
- extracelulární matrix (kolagen, hyaluronát,..)



- Stimulace hematopoetiny – Erythropoetin, Thrombopoetin, cytokiny a granulocytární kolonie stimulující faktor

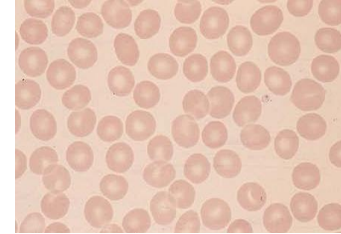
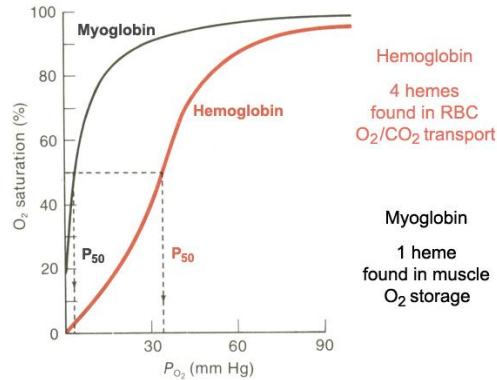


Erythrocyty - bezorganelová buňka, život cca 120 dní
 - transport dýchacích plynů



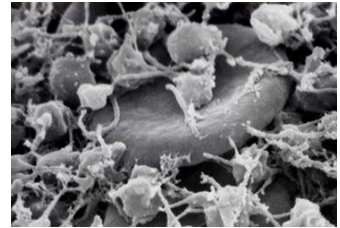
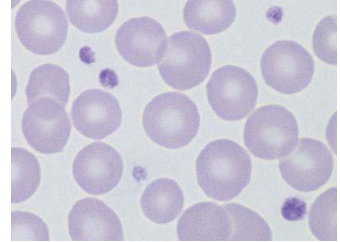
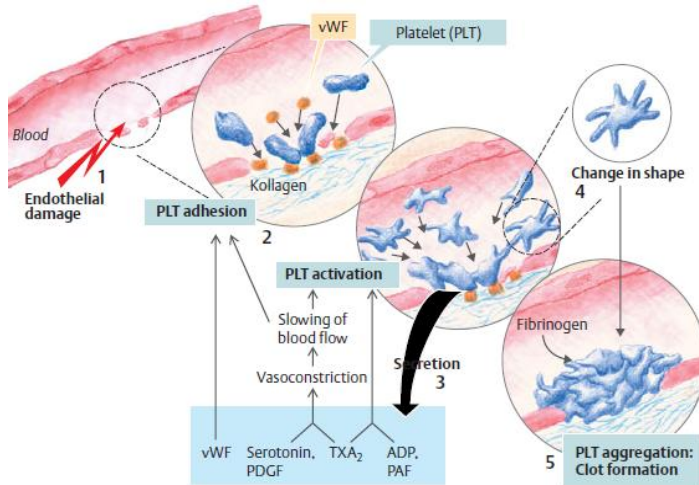
- $\text{CO}_2 + \text{Hb} = \text{karbaminohemoglobin}$
- $\text{CO} + \text{Hb} = \text{karboxyhemoglobin}$
- $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ v Hb = **methemoglobin**

Hemoglobin (HbA) – $\alpha_2\beta_2$
 - každý řetězec = porfyrin s Fe^{2+} vážící kyslík
 - pozitivní kooperativita
 - Vazba ovlivněna pH, teplota, 2,3-BPG



Thrombocyty - bezjaderné, život 9-12 dní

- ochrana před ztrátou krve
- granula obsahují některé faktory srážlivosti (fibrinogen, faktor V, von Willebrandův faktor)

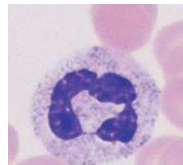


-Vitamin K nutný pro tvorbu Glu
residuí některých proteinů
srážlivosti vázajících Ca^{2+} v
membráně thrombocytů

- TXA₂ tvořen cyklooxygenasou
(inhibice acylpyrinem)

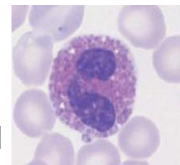
Leukocyty

Neutrofily – 50-70% cirkulujících leukocytů, fagocytosa, 7- 8h v krvi, 4-5 dní v tkáních, tvorba ROS a RNS



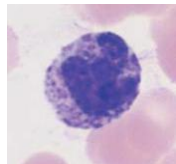
Neutrofil

Eosinofily – fagocytace komplexů alergen-protilátka



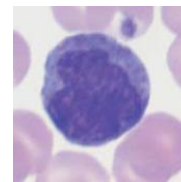
Eosinofil

Basofily – granula s obsahem heparinu a histaminu, uplatnění při alergických reakcích



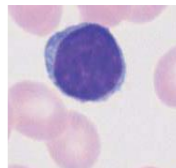
Basofil

Monocyty (Makrofágy) – fagocytosa, ničení tox



Monocyt

Lymfocyty (B- a T-) – vývoj v dřeni (B) či brzlíku (T), tvorba protilátek (B), pomoc při imunitních reakcích a cytotoxicita (T)

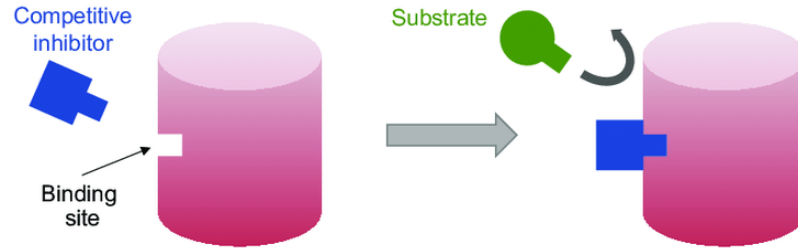


Lymfocyt

Typy nox majících vliv na Erytrocyty

- **kompetitivní inhibice** vazby kyslíku na Hb (CO, CN⁻, H₂S – vazba na Fe)
- **chemicky indukovaná anemie** se sníženým množstvím erytrocytů
 - oxidace Hb – tvorba Fe³⁺
 - modifikace proteinů membrány – aktivace imunitního systému

→ **Hypoxie (Anoxie)** - euforie až ztráta vědomí



Oxid uhelnatý (CO)



- mírné problémy až hypoxie, kardiovaskulární a neurologické účinky (ztráta paměti)
- vazba **snižuje** množství vazebných míst pro kyslík a **zvyšuje** afinitu k již navázanému kyslíku (Haldanův efekt)

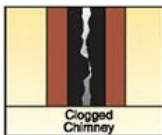
-0,1% CO ve vzduchu = 50% karboxyhemoglobinu

-ve větrané místnosti je doba eliminace karboxyhemoglobinu cca 4-5h

Methylenchlorid (Dichlormethan) - na odstraňování barev z nábytku - metabolizován P450 (2010 – zákaz v EU, 2023 – zákaz v USA)



Car Left Running in Attached Garage



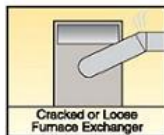
Clogged Chimney



Corroded or Disconnected Water Heater Vent Pipe



Gas or Wood-Burning Fireplace



Cracked or Loose Furnace Exchanger



Improperly Installed Kitchen Range or Vent



Operating a Grill Indoors or in Garage



Portable Kerosene or Gas Heaters

Léčba

-hyperbarická léčba kyslíkem – pO_2 z 0,2 bar na 2,5 bar → doba eliminace CO zkrácena na 1/10

-Allopurinol – inhibice Xanthin Oxidasy

-N-acetylcysteine – dárce SH

-Insulin – suprese hyperglykemie

Symptomy

- Bolest hlavy
- Nausea
- Zvracení
- Únava
- Chřipce podobné stavy
- Zmatení
- Tachykardie
- Bezvědomí
- Smrt

Carboxyhemoglobin (%) Hemoglobin Saturation with Carbon Monoxide	Effect
0.3-0.7	Background concentrations due to endogenous production of carbon monoxide
1-5	Increase in blood flow via compensating mechanisms such as increased heart rate or increased contractility (these concentrations are typically observed in cigarette smokers)
2-9	A reduction in exercise tolerance and an increase in the visual threshold for light awareness
16-20	Headache; abnormal visual responses
20-30	A throbbing headache accompanied by nausea, vomiting, and a decrease in fine-motor movement
30-40	Severe headaches, nausea, vomiting, and weakness
50+	Coma and convulsions
67-70	Lethal if not aggressively treated

Kyanid

-Izolace z Berlínské modři – C.W.Scheele

-Válečný jed



Zdroje:

- oheň – spalování bavlny, hedvábí, polyuretan
- průmysl – těžba Au, Ag, výroba plastů
- léky – Amygdalin (hořké mandle)



- protinádorové léčivo
- Nitroprussid sodný (Nipride)
- antihypertenzivum



- respirační jed – vazba na cytochromoxidasu a3 (Fe) – inhibice dýchacího řetězce

-zástava dýchání, arytmie, selhání srdce

-otrava kyanovodíkem či pozřením solí (cca 100 mg Na/KCN je smrtelných)

Léčba

-80% detoxifikováno transsulfurací na SCN⁻

- metabolizace rhodanasou (EC 2.8.1.1)



Protijed

- thiosíran sodný

- sloučeniny Co (vznik B₁₂) - Cyanokit

- NaNO₂ – tvorba MetHb



-podpůrná terapie

- hyperbarický kyslík – potenciace účinku dusitan/thiosíranové terapie

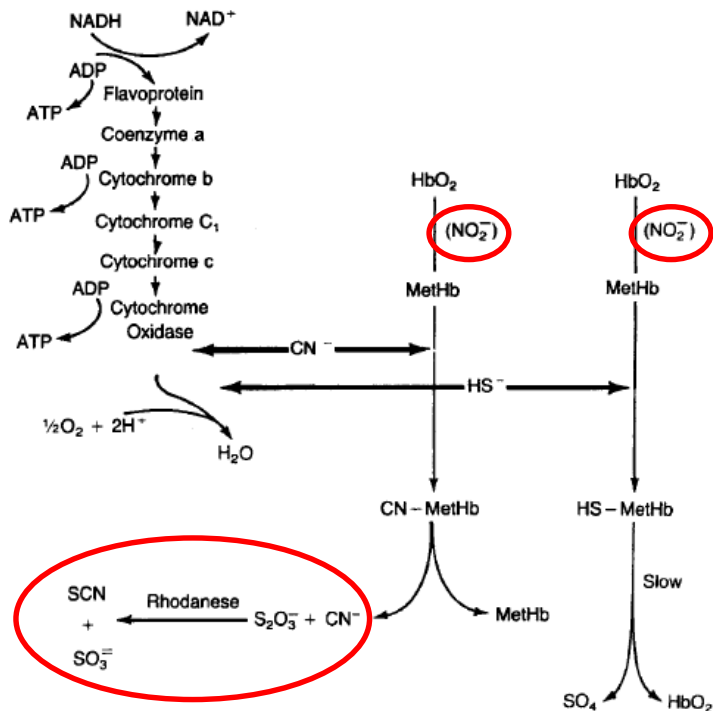
- NaHCO₃ – korekce laktátové acidózy

Sulfan (H_2S)

- inhibice cytochromoxidasy
- expozice u kanalizací, siláži
- adaptace nebezpečná
- po absorpci plicemi metabolizován játry a krví až na sulfát
- **Léčba** – podobně jako u Kyanidu

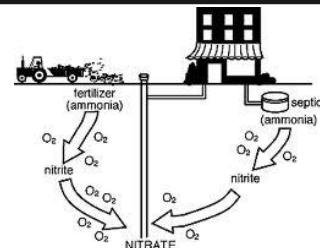
Air Concentrations of Hydrogen Sulfide (parts per million)

Air Concentrations of Hydrogen Sulfide (parts per million)	Effect
0.022	No odor.
0.025–0.13	Noticeable to minimally detectable odor.
0.3	Distinct odor.
0.77	Generally perceptible.
3–6	Quite noticeable, offensive, moderately intense.
20	OSHA acceptable ceiling level.
20–30	Strong intense odor but not intolerable.
150	Olfactory nerve paralysis and mucous membrane irritation.
200	Less intense odor due to eventual sensory fatigue.
250	Prolonged exposure may cause pulmonary edema. Increasing mucous membrane irritation.
500	Dizziness over a few minutes to severe central nervous system impairment and unconsciousness if inhaled for more than a few minutes. Increasing mucous membrane irritation.
700–1000	Unconsciousness may develop rapidly followed by respiratory paralysis and death within minutes. Increasing mucous membrane irritation.
5,000	Imminent death.

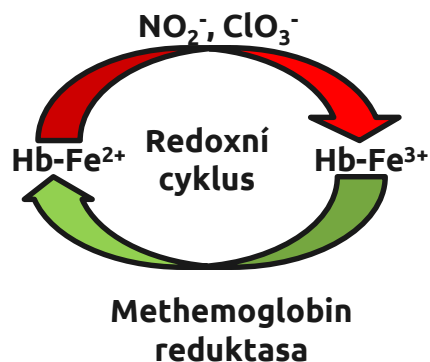


Dusičnany (NO_3^-)/dusitany(NO_2^-)/chlórečnany (ClO_3^-)

- tvorba methemoglobinu – změna barvy krve na nahnědlou
- od cca 15-20% - symptomy **hypoxie**; vyšší koncentrace – **bolesti hlavy, závratě, nausea**
- **protijed** – **IV administrace methylenové modři (redukční ekvivalenty)**
- NO_2^- , ClO_3^- oxidují přímo, NO_3^- po redukci na NO_2^- bakteriemi ve střevě
- expozice v industriálních oblastech z kontaminované studniční vody

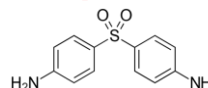


Oxidační konverze Hb na MetHb = **redoxní cyklus**



Aromatické amino/nitrosloučeniny

Anilin

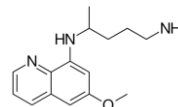


Dapsone

Nitrobenzen



stavební kameny barviv,
farmaceutického průmyslu



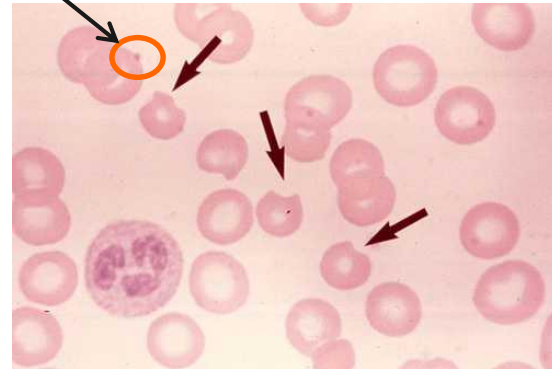
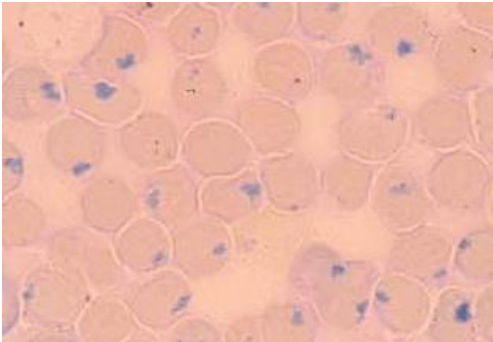
Primaquine

léčba lepry, malárie

Mechanismus působení:

- poškození membrány – fagocytace slezinnými makrofágy
- nitrosloučeniny redukovány na amino ve střevě - **iniciace Redoxního cyklu** – tvorba ROS – oxidace proteinů – prokřížení – precipitace (Heinzova tělíska), změna morfologie

- Nebezpečné pro lidi deficientní
v glukosa-6-fosfát dehydrogenase

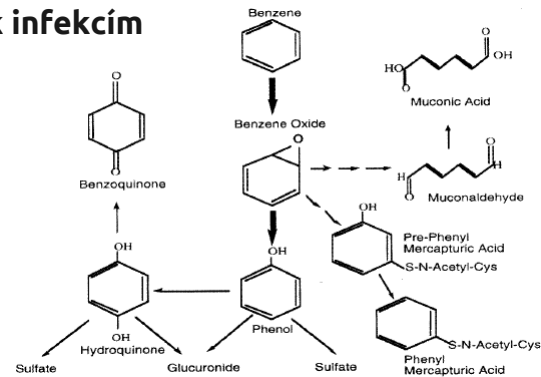


Suprese kostní dřeně

- pancytopenie – všechny elementy produkované dření jsou sníženy
- krvácení, redukce v počtu destiček, anémie (únava), zvýšená citlivost k infekcím

Léčiva:

- **tolbutamid**, **methyldopa**, **kyselina valproová**,
alkylační činidla (5-fluorouracil, cytoxan), **zlato**,
allopurinol, chloramfenikol



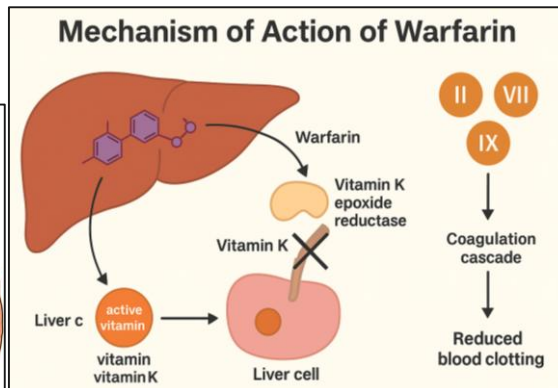
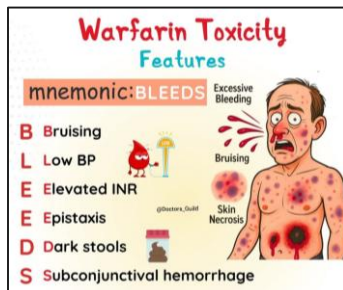
- **benzen** (příčina akutní myeloidní leukemie, AML) – v důsledku vzniku reaktivních metabolitů skrz CYP2E1

Otravy

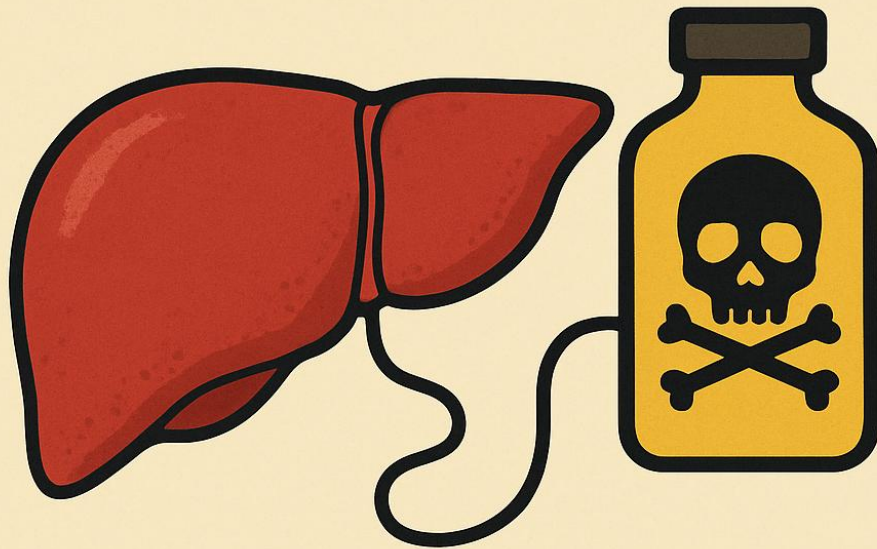
- **Pb** - inhibice syntézy hemu v játrech (basofilní tečkování - akumulace pyrimidinových sloučenin)
- **protijed** - EDTA, penicillamin, dimercaprol (chelatace)



- **warfarin** - inhibice tvorby srážecích faktorů - vliv na koagulaci
- **protijed** - Vitamin K



HEPATOTOXICITA

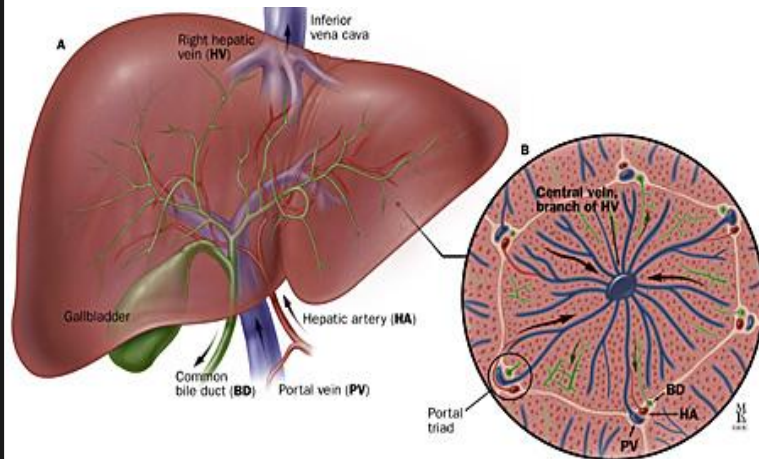


Játra – struktura

- hepatocyty/parenchymální buňky obklopené sinusoidami (krevní cévy)
- Kupferovy buňky – fagocytosa

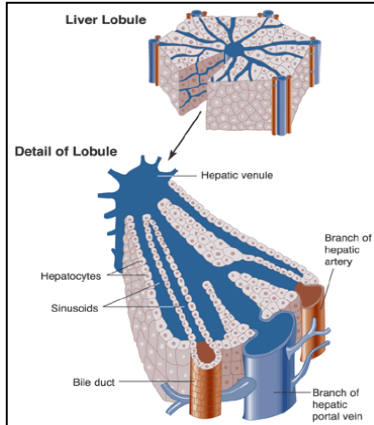
Krev je dodávána ze 2 zdrojů:

- jaterní arterie (okysličená krev) - **HA**
- portální žíla (živiny) - **PV**



- portální žíla – na vstupu do jater se dělí a odtéká do sinusoid – na výstupu hepatické žíly = dolní dutá žíla a vstup do srdce

- žlučové kyseliny jsou odnášeny žlučovými kanálky, jež sledují větve portální žíly – vstup do horní části střeva (duodenum)



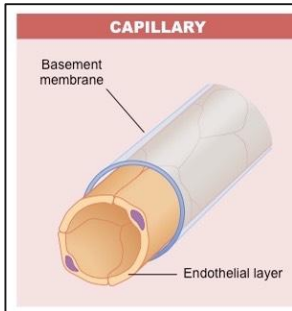
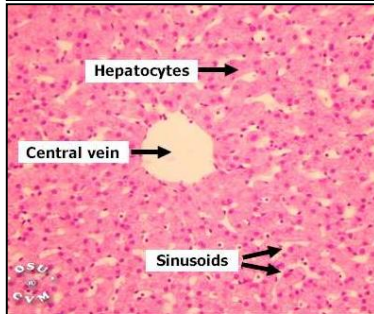
Jaterní lobulus – definováno histologicky – hexagonální oblast kolem centrální žíly

Portální triáda – 6 – žíla, artérie, kanálek

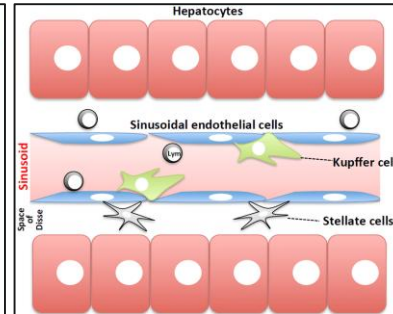
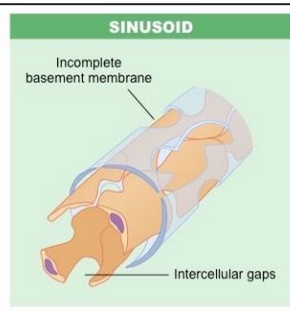
Centrilobulární – oblast blízko centrální žíly

Sinusoidy – „dírkované“ kanály mezi hepatocyty umožňující prostup tekutiny a molekul menších než 259 kDa

- vznik spojením PV + HA
- 70% povrchu hepatocytů je v kontaktu s krví

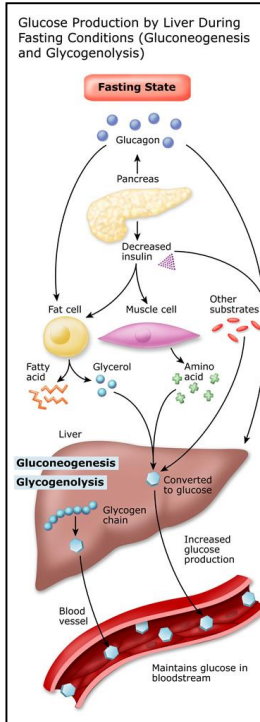
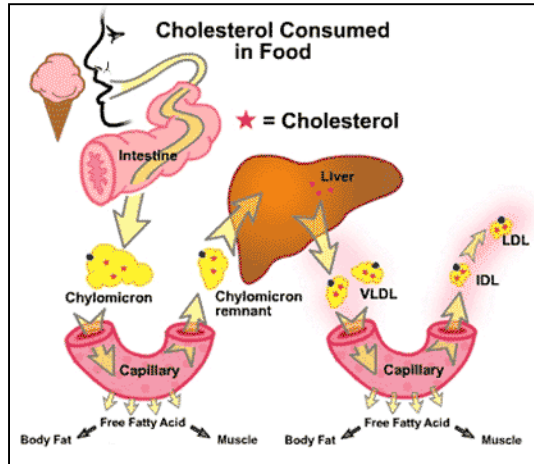


VS



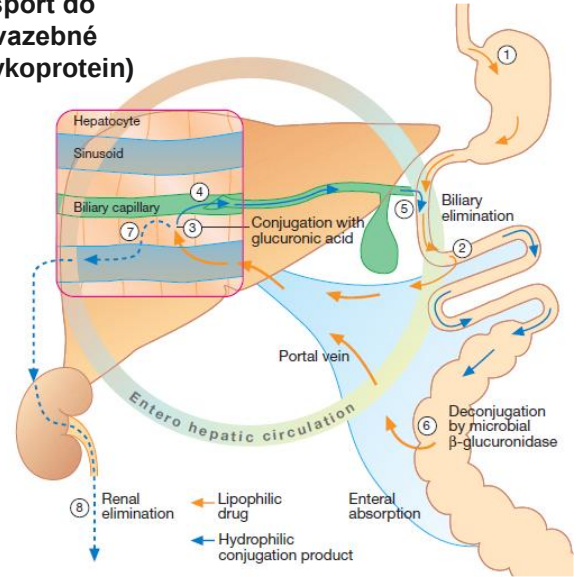
Játra – funkce

- skladování (glykogen, tuky- ADEK)
- syntéza (koagulační faktory, albumin)
- metabolismus (mastné kyseliny na VLDL)
- biotransformace
- exkrece to žluči



Dekonjugace ve střevě → zvýšení lipofility a absorpce
portální žílou do jater → konjugace – vyloučení do žluči
→ štěpení ve střevě... **enterohepatální cyklus**

Aktivní transport do
žluči – ATP-vazebné
kazety (P-glykoprotein)



Játra = Cílová tkáň pro chemicky indukovaná poškození

- první orgán perfundovaný xenobiotiky po absorpci v GI
- vysoká koncentrace XMEs
- často poškozena centrilobulární oblast – vysoká koncentrace P450

Typy poškození jater – dle doby působení a koncentrace sloučeniny

Tučná játra – abnormální akumulace tuků v játrech

Místa interference:

- 1) Syntéza proteinové části
- 2) Konjugace TAG s lipoproteiny
- 3) Přenos VLDL přes membránu
- 4) Syntéza fosfolipidů
- 5) Oxidace lipidů v mitochondriích



Carbon tetrachloride
Chloroform
Trichloroethylene
Tetrachloroethylene
Bromobenzene
Thioacetamide
Ethionine

Necrosis and fatty liver

Dimethylnitrosamine
Cyclohexamide
Tetracycline
Acetaminophen
Mitomycin
Puromycin
Tannic acid

Phosphorous
Beryllium
Allyl alcohol
Galactosamine
Azaserine
Aflatoxin
Pyrrolizidine alkaloids

Nekróza - degenerativní proces vedoucí k buněčné smrti
- prasknutí membrány, zvětšení ER, akumulace TAG, nabobtnání mitochondrií

Apoptóza - kontrolovaná forma buněčné smrti
- normální fyziologický proces – indukován anoxií, oxidačním stresem, radiačním ozářením

Karcinogeneze – většinou hepatocelulární karcinom

Carcinogenesis (experimental animals)

Aflatoxin B1
Pyrrolizidine alkaloids
Cycasin
Safrole

Dimethylbenzanthracene
Dialkyl nitrosamines
Polychlorinated biphenyls
Vinyl chloride

Acetylaminofluorene
Urethane

Cholestáza - zpomalení či zastavení toku žluče

Cholestasis (drug-induced)

Chlorpromazine
Promazine
Thioridazine
Mepazine
Amitriptline

Imipramine
Diazepam
Methandrolone
Mestranol
Estradiol

Carbarsone
Chlorthiazide
Methimazole
Sulfanilamide
Phenindione

Cirhóza – postupující nemoc charakteristická ukládáním kolagenu v játrech na místo funkční tkáně – většinou chronické poškození (etanol)

Hepatitida – zánět jater, obvykle virálního původu

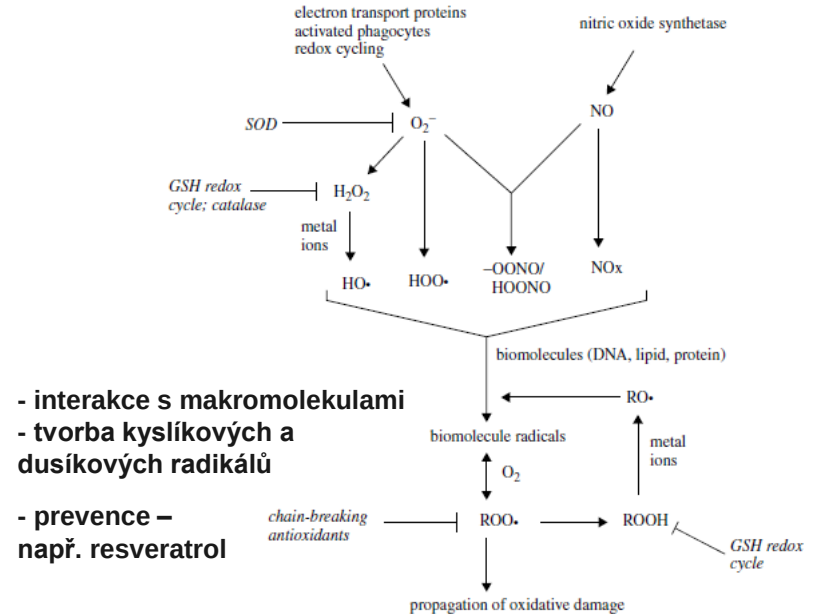
Hepatitis (drug-induced)

Iproniazid
Isoniazid
Imipramine
6-Mercaptopurine

Methoxyflurane
Papaverine
Phenyl butazone
Cholchicine

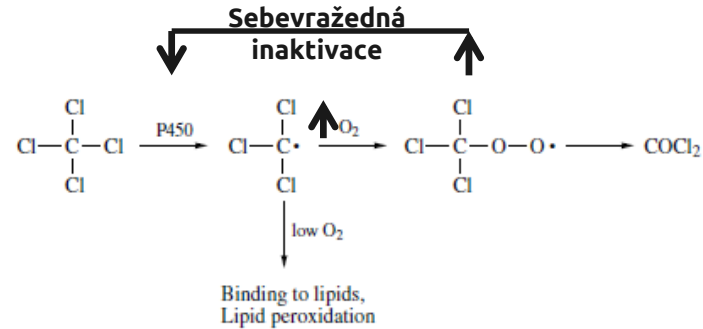
Halothane
Zoxazolamine
Indomethacin
Methyl dopa

Oxidační stres - nepoměr mezi pro/antioxidačním stavem v buňce s vyšším zastoupením pro-oxidantů

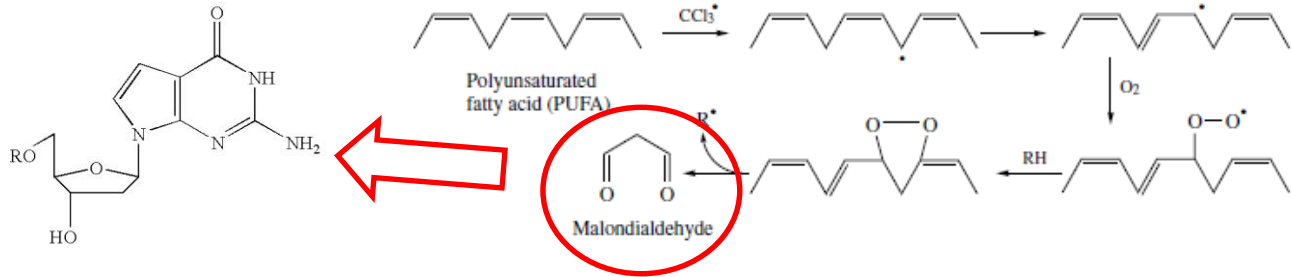


Tetrachlormetan (CCl_4)

- aktivován CYP2E1 – vznik $\text{CCl}_3\cdot$ -
- největší poškození v centrilobulární části
- krátká doba života
- produkce aldehydů, toxicita ve vzdálenějších tkáních
- do 24h – hyperbarická léčba cca 2.5 atm po cca 1h



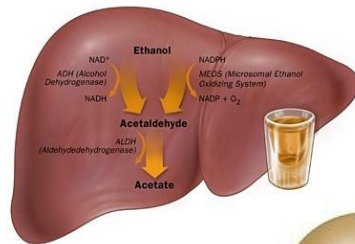
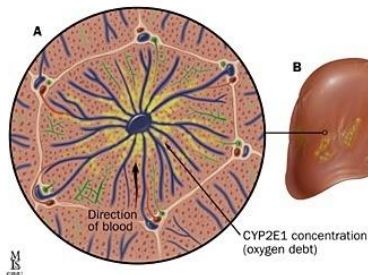
Tvorba kovalentní vazby s dG



Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)

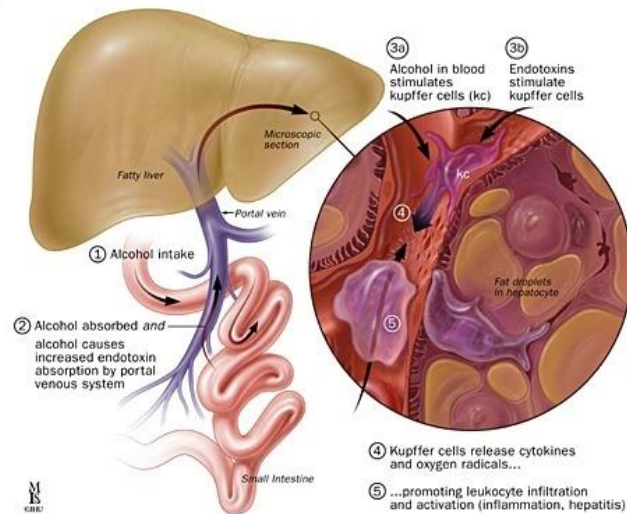
- interference s metabolismem lipidů, indukce zánětu
- zvyšuje tvorbu superoxidu Kupferovými buňkami
- proteinové addukty s aldehydem – zhoršení VLDL sekrece, nové antigeny
- malnutrice zhoršuje vážnost nemoci
- podporuje vstřebávání Fe - dárce elektronů → nárůst ROS
- **metabolizován (ADH, ALDH)** – genetická variabilita (Asiaté mají ADH, ale málo ALDH → „flushing syndrome“)
- **produkce ROS** indukovaným enzymem CYP2E1
- polymorfismus může korelovat s citlivostí k vývoji nemoci

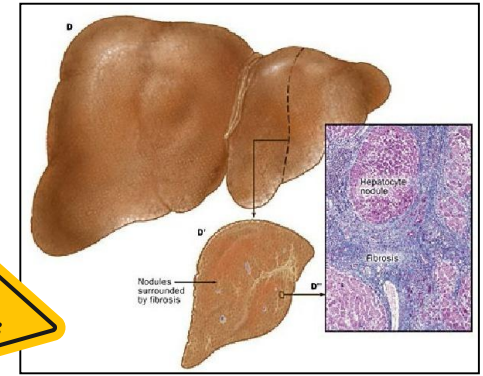
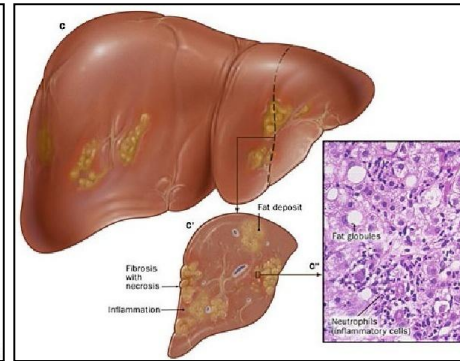
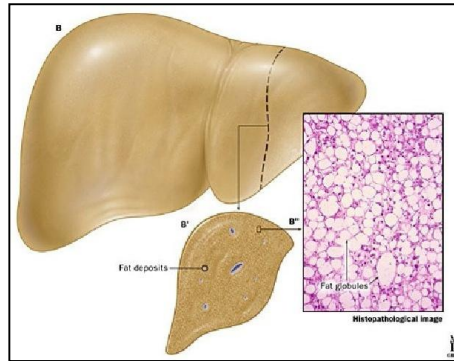
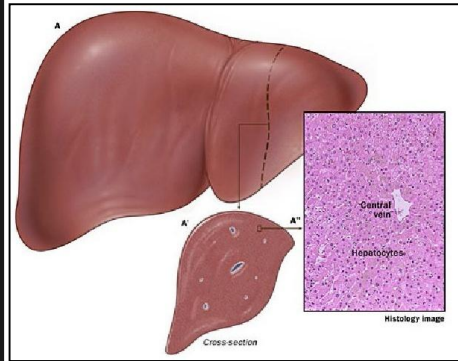
- Poškození jater nejnápadnější v centrilobulární oblasti - nejdále od oxygenované krve → nedostatek kyslíku přispívá k poškození



- Prozánětlivé cytokiny – častý nález v krvi pacientů s alkoholovou hepatitidou

- TNFalfa, IL-8 – nepřímá úměra s prognosou – podpora aktivace leukocytů

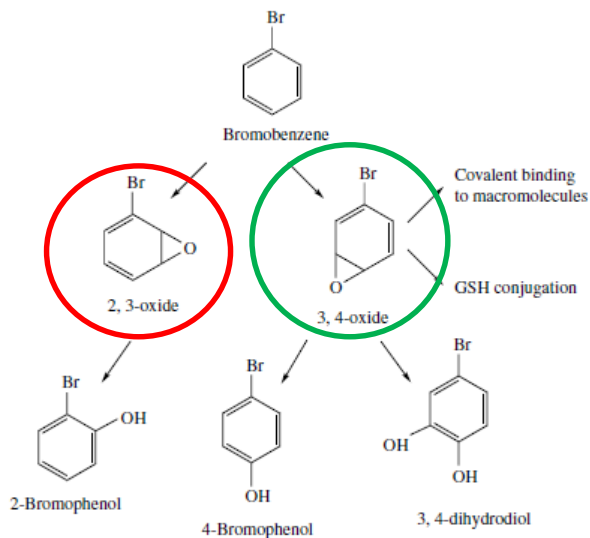




Bromobenzen

- **průmyslové toxické rozpouštědlo**
způsobující centrilobulární jaterní nekrozu
přes tvorbu reaktivních epoxidů

- tvorba epoxidů přes P450
- **2,3-epoxid méně toxický**



- inkubace s 3-methylcholanthrenem (3MC)
vede k primární produkci **2,3-epoxidu**

- inkubace zvířat s phenobarbitalem (PB) zvyšuje tvorbu **3,4-epoxidu**

Acetaminofen

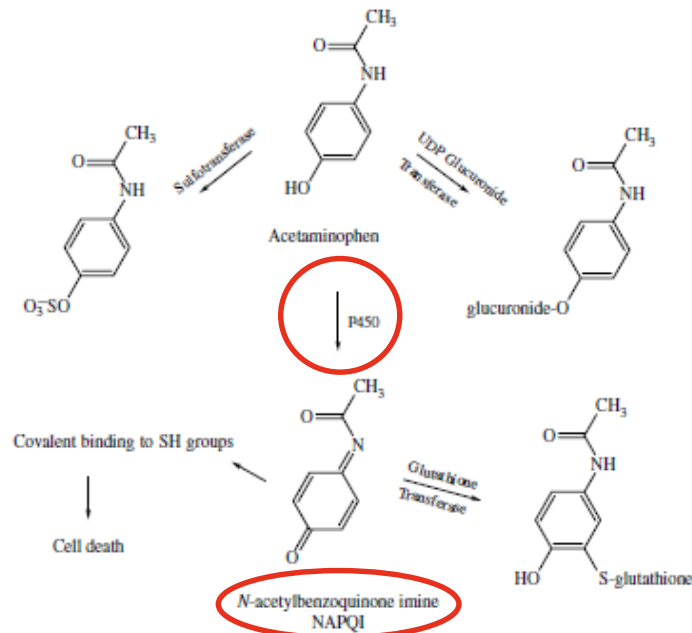
- analgetikum, bezpečné v terapeutických dávkách
- předávkování vede k akutní centrilobulární nekróze – CYP2E1 / CYP1A/ CYP3A4 ??



- včasný přísun methioninu, **N-acetylcysteinu**, cysteaminu zabrání poškození jater



Inhibice P450



- **zvýšení toxicity** po preinkubaci PB, 3MC, EtOH !!!!
- **snížení toxicity** – Metyrapon (Metopiron), Piperonyl butoxide

Metabolická aktivace hepatotoxikantů - závěry

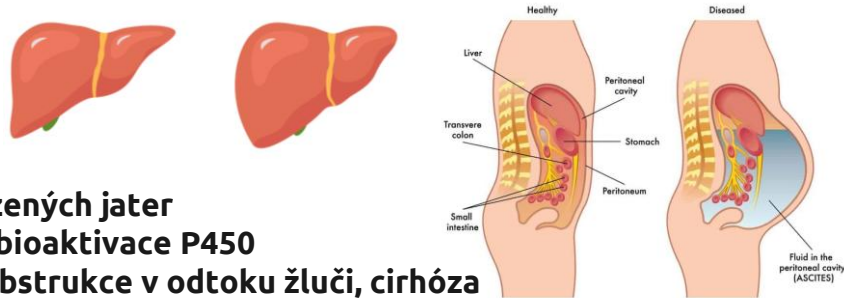
- tvorba minoritního avšak vysoce reaktivního intermediátu
- musí být překročena prahová koncentrace reaktivního metabolitu aby došlo k poškození
- endogenní sloučeniny ochraňují buňky před poškozením reaktivními intermediáty
- látky indukující či inhibující XMEs mohou ovlivňovat toxicitu
- reakce katalyzované např. GST hrají důležitou úlohu v ochraně buňky

- Symptomy**
- ztráta chuti k jídlu (anorexie), nausea, zvracení, únava
 - **hepatomegalie, ascites**
 - **žloutenka**

Zhodnocení poškození jater

Morfologické zhodnocení

- původ lézí a oblast poškozených jater
- centrilobulární nekróza = bioaktivace P450
- CT, MRI – rakovina jater, obstrukce v odtoku žluči, cirhóza

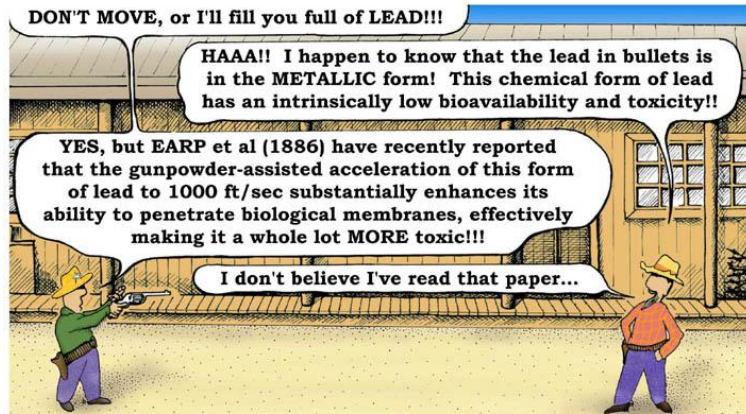


Krevní testy

- měření funkčnosti jater – exkrece bilirubinu, faktorů krevní srážlivosti, albuminu, test clearance barviv
- detekce jaterních intracelulárních proteinů

Enzyme	Acronym	Comments
Alanine aminotransferase	ALT	Found mainly in the liver; increase reflects primarily hepatocellular damage
Aspartate aminotransferase	AST	Less specific to the liver than ALT; increase reflects primarily hepatocellular damage
Alkaline phosphatase	ALP	Increases reflect primarily cholestatic injury
γ -Glutamyl transferase; γ -glutamyltranspeptidase	GGTP	Increases reflect primarily cholestatic injury, although elevated in hepatocellular damage as well

Slovo závěrem.....



Vyvarujte se otrav
jater a krve v
jakékoliv formě...
...neboť to za to
nestojí





THANKS!

Do you have any questions?

youremail@freepik.com

+34 654 321 432

yourwebsite.com



CREDITS: This presentation template was created by [Slidesgo](#), and includes icons by [Flaticon](#), and infographics & images by [Freepik](#)

Please keep this slide for attribution