

Základy Toxikologie

KBB/ZTOX



doc. Ing. Radim Vrzał, Ph.D.



Orgánová toxicita I.

Nefro- a Neurotoxická



Cíle:



- ✗ Funkční a anatomické charakteristiky ledvin a mozku
- ✗ Škodliviny působící na ledviny a mozek



Klíčové pojmy:

Kovy, Amfotericin, CisPlatina, Organofosfáty,
MPTP, Neuropatie

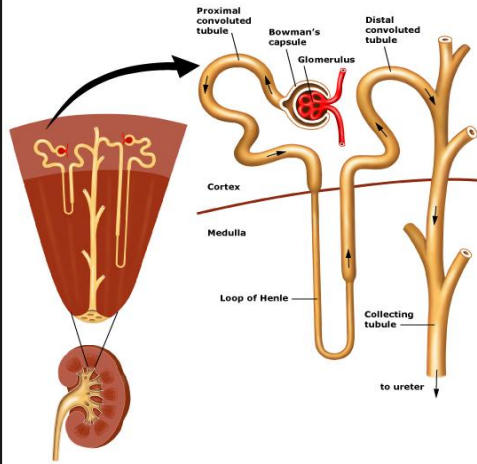


NEFROTOXICITA



Ledviny – místa eliminace ve vodě rozpustných sloučenin

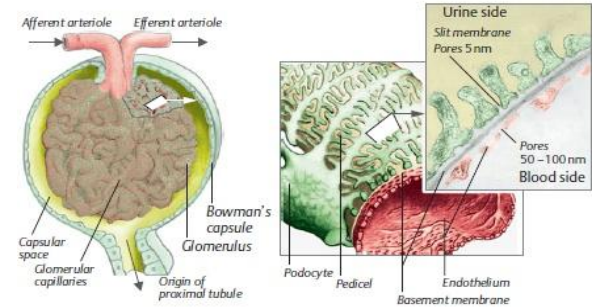
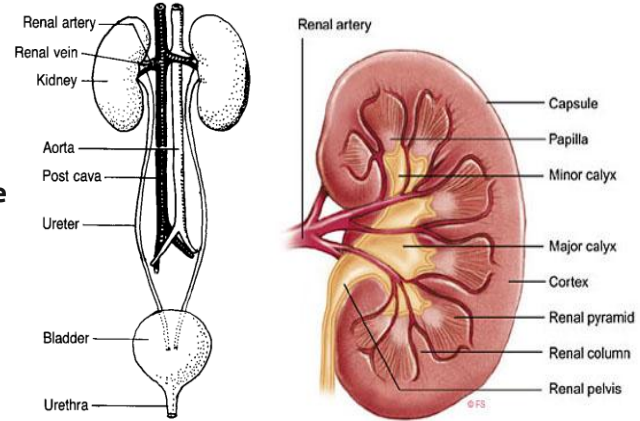
- **Kortex** – glomerulus, proximální, distální tubulus
- **Medulla** – Henleho klička, sběrné kanálky
- **Papilla** – místo uvolnění moči do minoritního kalyxu - tubulární tok v papille je koncentrovaný a snížený → **extrémně vysoká koncentrace** toxikantu



Krev přiváděna renální arterií.
Funkční jednotka = **nefron** -
síť kapilár = glomerulus

- **vysoký tlak krve** → přestup póry glomerulu a sběr v Bowmanově váčku (voda, glukosa, AK, močovina, cizí sloučeniny)
- **proximální tubul** – reabsorpce některých složek do krve (aktivním transportem) – glukosa, AK
- **Henleho klička** – reabsorpce vody v klesající části, iontů (Na^+ , K^+ , Cl^-) ve stoupající části

Zbylý materiál ve filtrátu = **moč**



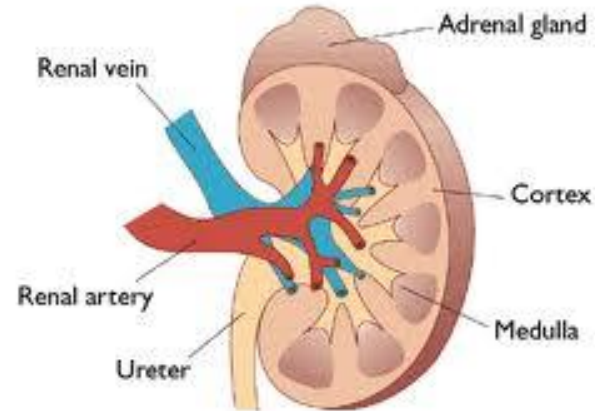
Transport oběhovým systémem

- **rozpustné látky** difuzí a cirkulací k místům eliminace
- **lipofilní látky** – vazba na proteiny či lipoproteiny – v místě eliminace difuze k membránám či vazba na receptory membrány s proteinem (endocytosa) a intracelulární procesy (biotransformace) vedoucí k eliminaci
- filtrace látek o **velikosti** < 65 kDa

Ledviny

- dostávají 25% kardiálního výstupu → **přísun xenobiotik**
- **koncentrují** tubulární kapalinu (↑c)
- **biotransformují** – podobné játrům - (acetaminofen, bromobenzen, chloroform, tetrachlometan): P450 přítomné v proximálním tubulu → tvorba reaktivních metabolitů → interakce s makromolekulami

Diagram of Kidney



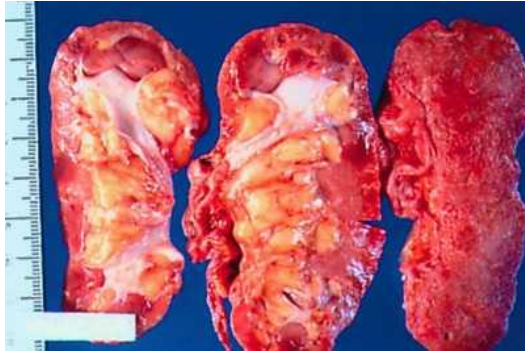
(Těžké) KOVY

- Některé esenciální (Fe, Co, Mn, Mo, Cu, Zn)
- Jiné ne-esenciální = toxické (Cd, Hg, Pb, As, Sb, Al, Be)
- v nízkých koncentracích – aminoacidurie, glukosurie, polyurie
- akumulace v lysosomech
- ve vyšších koncentracích – renální nekrosa, anurie, zvýšený BUN (blood-urea-nitrogen)



Cd – jídlo, prach, kouř, kouření

- Japonsko – Itai-Itai – rýže z půdy s vysokým obsahem Cd
- anémie, poškození proximálních tubul, ztráta kostí a minerálů
- exkrece spolu s metalothioneninem (–SH skupiny)
- 10-12 let je poločas u člověka

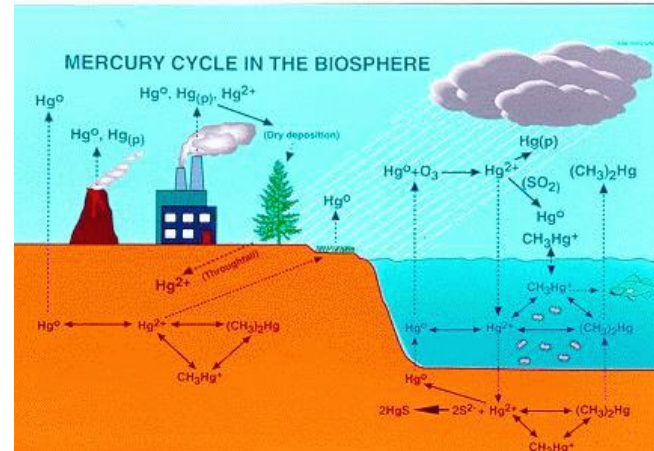


Pb – barvy, voda, jídlo, prach, olovnatý benzín

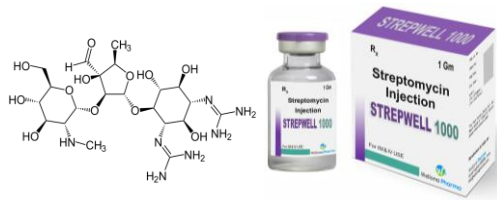
- absorpce proximálními tubuly, inhibice mitochondrií
- komplexy s kyselými proteiny tvoří inkusní tělíska tubulárních epitelálních buněk

Hg – vazba na –SH skupiny membránových proteinů – inhibice Na^+ reabsorbce = diuretikum (20.- 60.léta 20. st. v klinické praxi organické komplexy s Hg)

U - cca 50% vázáno jako $(\text{UO}_2)^{2+}$ na hydrogenuhličitan – filtrace glomerulem, disociace v proximálním tubulu a vazba na membrány proximálního tubulu – zvýšená koncentrace glukosy, AK, proteinů v moči

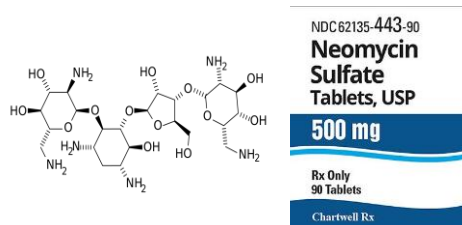


Aminoglykosidy – streptomycin,



- polární kationty reabsorbovány vazbou na aniontové fosfolipidy v membráně s následnou endocytosou a uschováním v lysozomu
- překročení kapacity lysozomů – vylití enzymů a nekróza

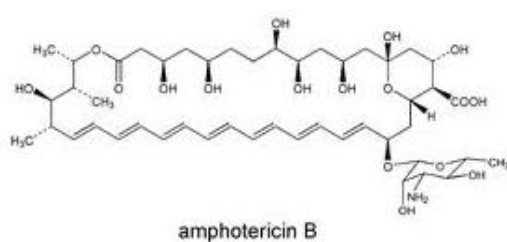
neomycin,



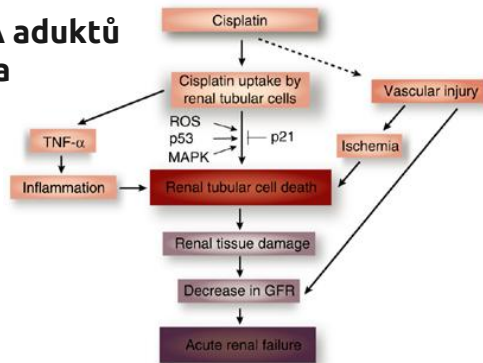
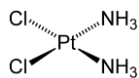
kanamycin



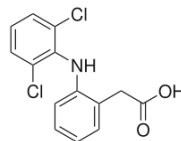
Amfotericin B – (polymyciny) vazba na fosfolipidy membrány a rozrušení integrity



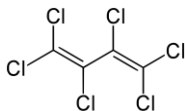
Cisplatina – tvorba DNA aduktů
– tvorba ROS → nekróza



NSAIDs – acetaminofen, *Diclofenac* – Indie
– úmrtnost supů po konzumaci mršín
domácího zvířectva – nálezy krystalů urátu
a nekroza endotelia proximálních tubul



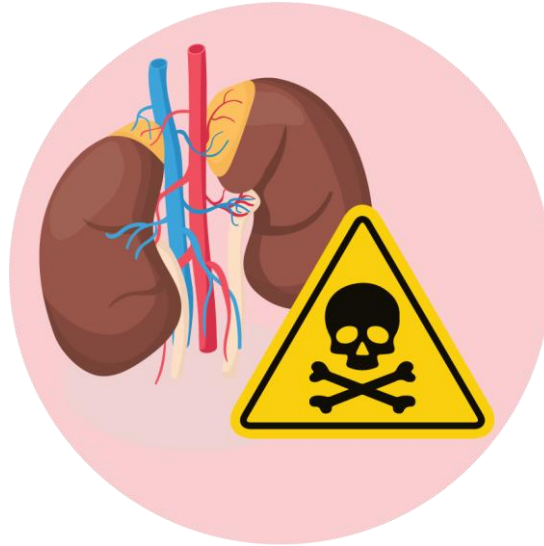
Hexachlorbutadien –
rozpuštědlo, teplovodní
medium



Chloroform – nefro- i
hepatotoxikant –
druhově a pohlavně
závislé (myši samci –
nekroza ledvin, myši
samice – nekroza jater)



Nefrotoxicita



NEUROTOXICITA

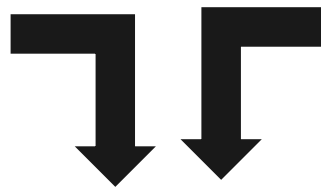


Neurotoxická

= Schopnost látky nepříznivě
ovlivňovat strukturní a funkční
integritu nervového systému

Změna v nervovém systému

- důsledek interakce s normálními
signalizačními mechanismy
- důsledek strukturální změny

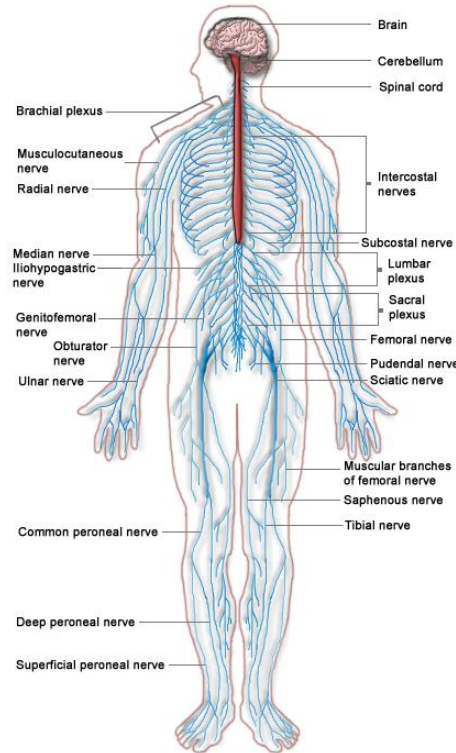


Nervový systém

- získávání informací z prostředí
- pocity, myšlení, uvažování

Rozdělení:

- **CNS** – mozek + mícha
- **PNS** – to ostatní
 - **somatický**
 - *afferentní* – přináší informace z kůže, svalů do CNS
 - *efferentní* – inervace skeletálních svalů pro kontrakci
 - **autonomní** – inervace a kontrola hladké svaloviny, srdce, endo- a exokrinních žláz
 - sympatikus a parasympatikus



Neuron - přijímá, vede, vysílá informace – polarizovaná buňka

- obklopen astrocyty, mikroglie, oligodendrocyty, ependymovými buňkami

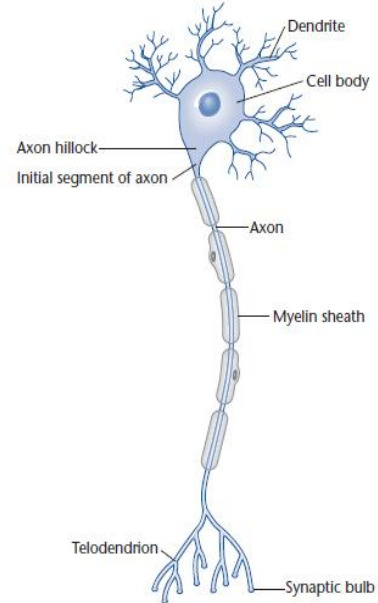
- **přenos elektrických impulsů**

- 3 části = tělo (soma), dendrity, axon

- **Soma** - biosyntéza, metabolismus

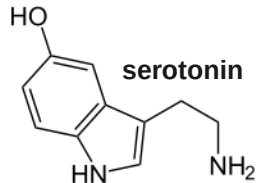
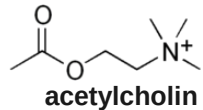
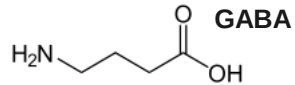
- **Dendrity** – přijímají signály a přenášejí je do těla neuronu

- **Axon (neurit)** – pouze 1, odvádí impuls od těla neuronu, milimetry až metr na délku, transport látek



Neurony

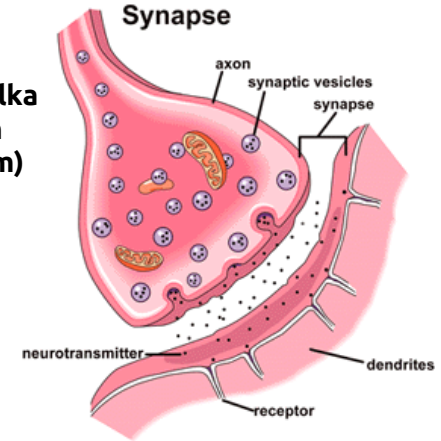
- **biochemicky diferencované** –
sekrece: acetylcholin, dopamin,
serotonin, gama-aminomáselná
(GABA)

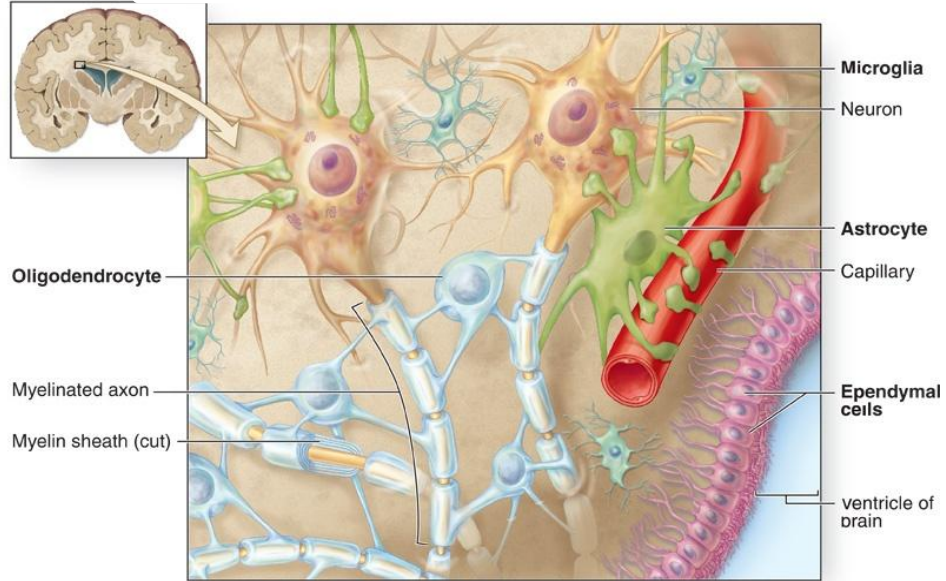


- **Konec axonu** - synaptická cibulka
- Mezera mezi cibulkou a dalším neuronem = **synapse** (cca. 20 μm)

V každé synaptické cibulce -
cca 500 membránově
vázaných váčků obsahující
jeden druh molekul –
neurotransmitery

Transportovány na konec
axonu, syntetizovány v
těle neuronu.





Astrocyty -

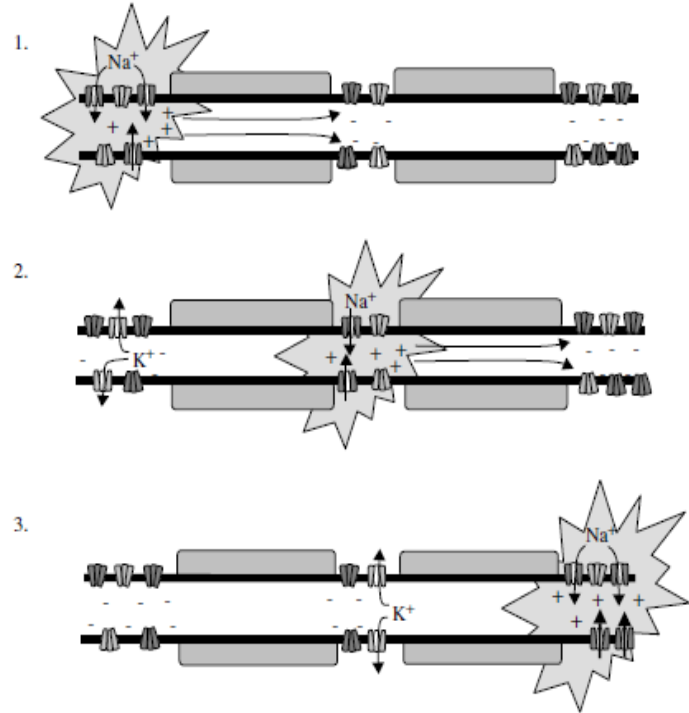
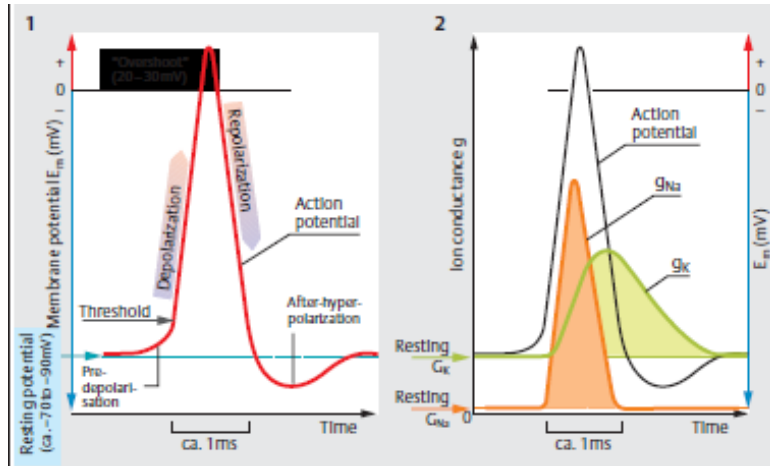
Mikroglie -

Oligodendrocyty –

Ependymové buňky

Klidový membránový potenciál - složen z koncentračních gradientů iontů (Na^+ , Cl^- , K^+) – napětově řízené kanály (voltage-gated channel)

Akční potenciál = maximální odpověď na otevření napětově řízeného kanálu



Neurotoxicita - **MPTP**

-1976 – syntéza „nového heroínu“ – meperidin

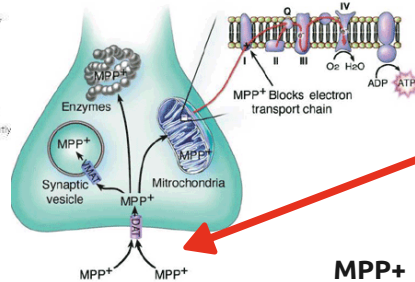
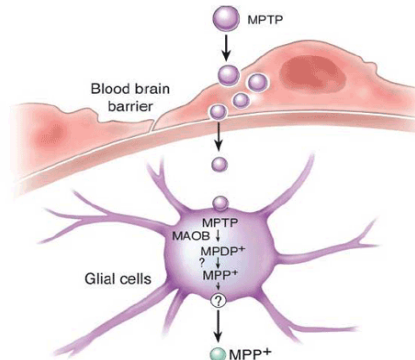
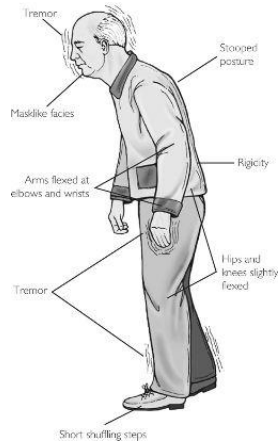
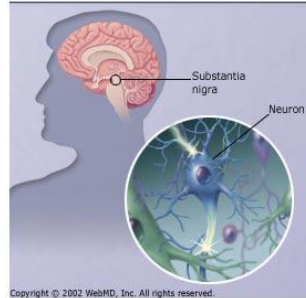
- v důsledku nečistot – symptomy Parkinsonismu

→ Pomalé pohyby, třes, ztuhlý rys

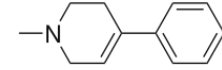
-Léčba L-DOPA → zlepšení stavu

→ Smrt dopaminergních neuronů (substantia nigra)

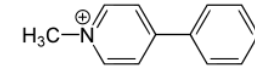
Parkinson's Disease



MPTP (1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin)



MPP+ (1-methyl-4-phenylpyridine)



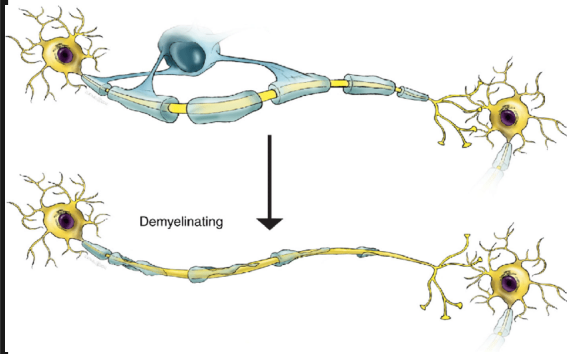
MAO-B – monoamin oxidasa – kritická (zanedbatelná exprese u kryš)

DAT – dopaminový transporter – vysoká exprese v *substantia nigra*

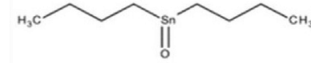
MPP+ inhibuje komplex I v mitochondriích
→ **ROS + energetická krize**

Typy neuronálních poškození

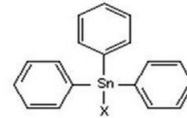
Demyelinace – svalová slabost, špatná koordinace, paralýza



- isoniazid, organocíny – narušení integrity myelinové pochvy



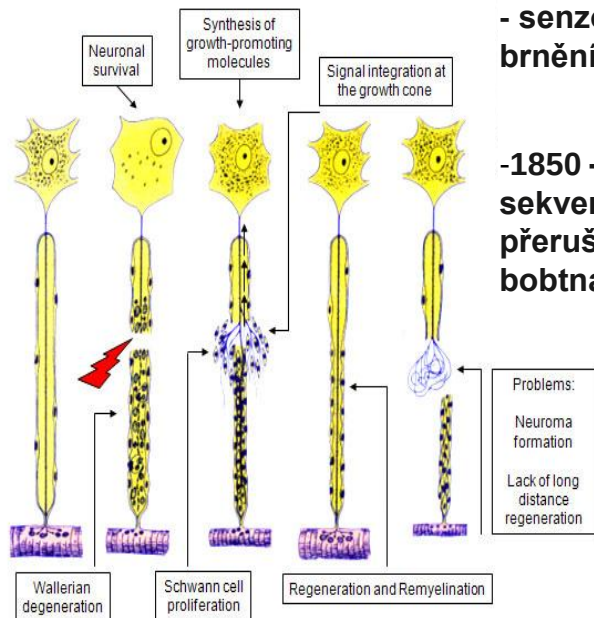
Dibutyl tin (DBT)



Triphenyl tin (TPT)

- styren, xylen, trichlorethylen (v sušení) = přímé poškození myelin tvořících buněk
- tellur = inhibice enzymu syntetizující cholesterol
- kyanid, olovo, CO – poškození oligodendrocytů a Schwannových buněk (tvorba myelinu v PNS)

Peripheral nerve regeneration



Axonopatie – degenerace axonu, tělo intaktní

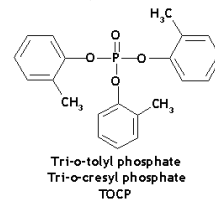
- senzorické změny jako první, brnění, necitlivost

-1850 – Augustus **Waller** -
sekvence událostí následující po
přerušení nervového vlákna =
bobtnání, rozpuštění, proliferace

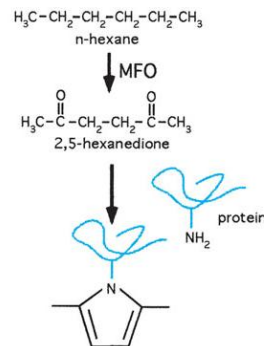
- interference s axonálním
transportem – **vinca alkaloidy**
(vinblastin, vinkristin)



- **Lyndol** - triorthokresyl fosfát (TOCP)
obsahující olej – padělání Ginger Jake za
prohibice v USA – brnění, necitlivost v
rukách a u nohou



- **hexan** – tvorba kovalentních aduktů s
neurofilamenty

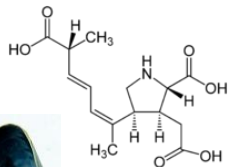


Neuronopatie

– poškození neuronu s primárním zasažením těla – apoptóza, nekróza

- **glutamát** a jiné excitační aminokyseliny – aktivace iontových kanálů = influx iontů → zahlcení Ca^{2+} – aktivace signálních kaskád s tvorbou ROS

- **kyselina domoová** (agonista glutamátového receptoru) – Kanada, 1987, konzumace modrých slávek – smrt, závratě

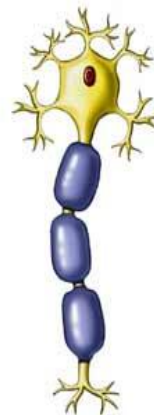


Toxicita gliálních buněk

Buňky tvořící myelinovou pochvu – syntéza cholesterolu – hydrofobní podstata – skladiště lipofilních škodlivin

- Kovy – **Pb, Cd, Al** – indukce buněčné smrti v astrocytech

- **Metylrtuť** (CH_3Hg) – akumulace v astrocytech a mikroglíích – bobtnání – interference s iontovými kanály



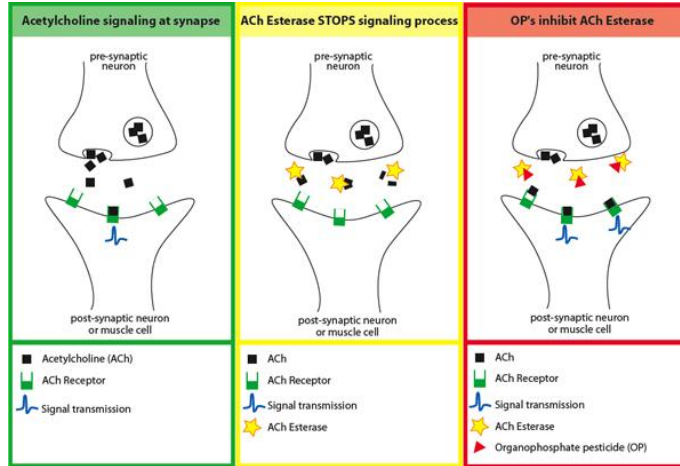
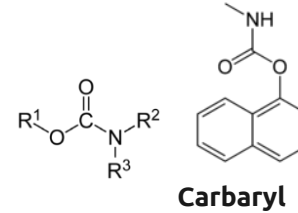
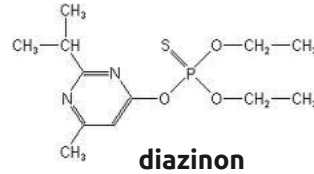
Neuron with myelin sheath



Neuron with damaged myelin sheath

Toxicita na synapsích

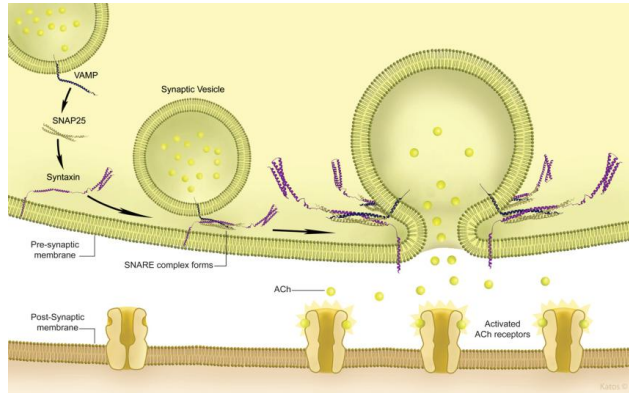
- **organofosfáty** – inhibice acetylcholinesterasy (AChE) kovalentní modifikací serinu v aktivním místě enzymu – stabilní až dny – spontánní hydrolyzá – obnovení aktivity
- **karbamáty** – karbamylace aktivního místa enzymu – spontánní hydrolyzá rychlejší



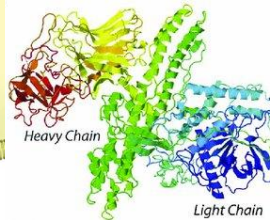
- **hypercholinergní aktivita**
- **SLUDGE** (břečka) – slinění, slzení, pomočování, defekace, GI potíže, zvracení (Salivation, Urination, Defecation, GI upset, Emesis)

Inhibice uvolnění neurotransmiteru do synapse

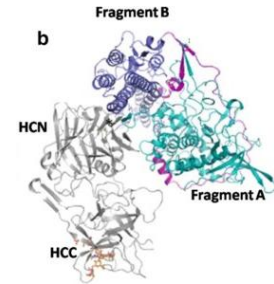
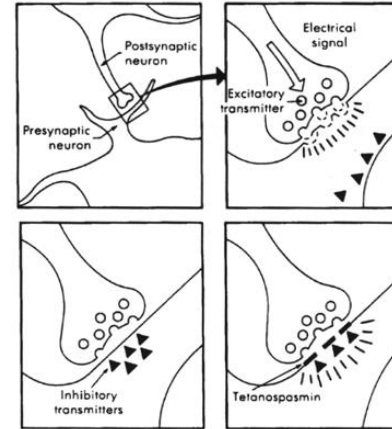
- **botulin** (*Clostridium botulinum*) – **proteáza**
štěpící proteiny zahrnuté ve fúzi synaptických váčků s
membránou – nedochází k uvolnění acetylcholinu → sval
nemůže kontrahovat → paralýza



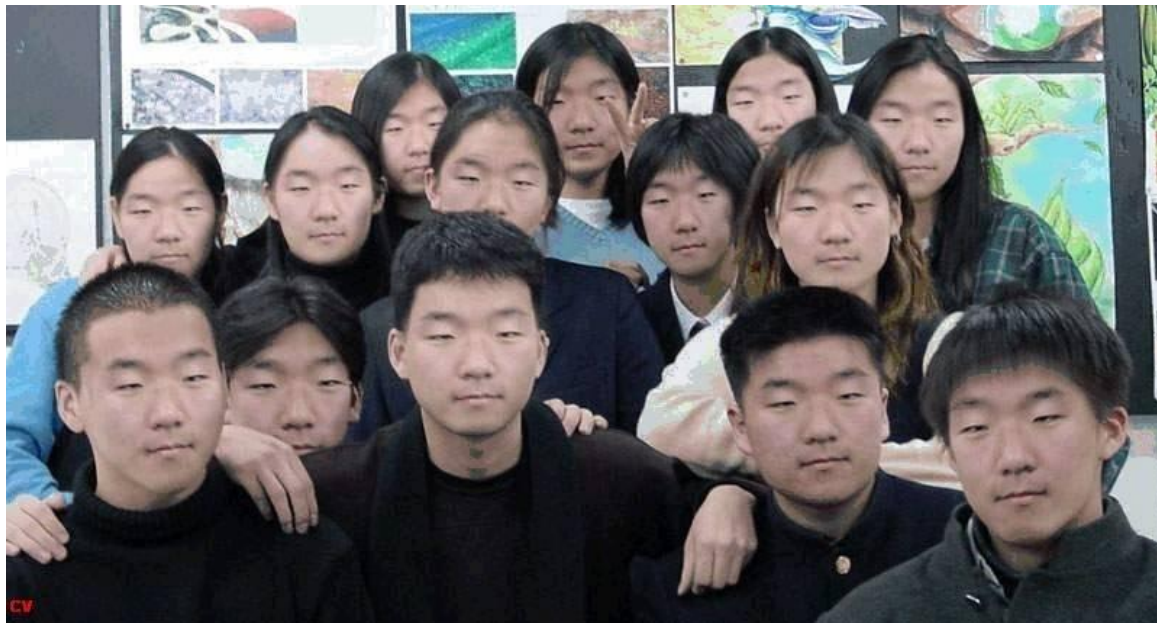
SNARE komplex = syntaxin + synaptobrevin + SNAP-25



- **tetanospasmin** (tetanus) – asociace s endosomy –
transport do těla neuronu - pak do dendritů, kde je
uvolněn – **zabraňuje uvolnění glycinu a GABA** →
hyperaktivita → křeče, ztuhlost, celková paralýza



Jak poznáme nepříznivé účinky na CNS ???



Testování neurotoxicity

EPA – příručka pro testování v hlodavcích – panel k zhodnocení senzorických, motorických a autonomních reflexů (FOB – functional observational battery)

Domain	Analysis	Test
Psychomotor performance	Motor speed, motor steadiness	Pursuit aiming
	Manual dexterity, hand-eye coordination	Santa Ana Dexterity Test
Perceptual coding and perceptual motor speed		Wechsler Digit Symbol Test
Attention and short-term memory	Attention and response speed	Simple reaction time
	Visual perception and memory	Benton Visual Retention Test
	Auditory memory	Wechsler Digit Span Test
Mood and affect		Profile of Mood States

Baterie neurobehaviorálních testů dle WHO

In vivo testy na lidech

- **mentální statut** (uvědomění, orientace, nálada) a **senzorimotorické funkce** (koordinace, reflexy, citlivost na dotek)
- **epidemiologické studie** (neuroimaging, neuropsychologické evaluace) - vyhodnocení chování (nálada, pozornost, paměť)

In vivo testy na zvířatech – použití zvířat, zejména hlodavců

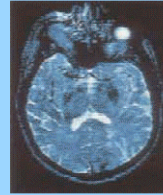
- **neurobehaviorální testy** (ztráta paměti, motivační defekty)
- **motorická aktivita** – pohyb zvířete v otevřeném prostoru či bludišti (toluen, chlorované uhlovodíky – změna motorické aktivity)

In vitro Histologie a Neurochemie – doplněk k *in vivo* testům (postmortem)

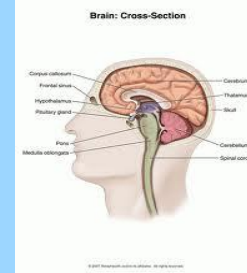
- **sběr tělesných tekutin** – hladiny AChE, neurotransmiterů či hormonů, detekce přítomnosti toxikantu v mozkomíšni tekutině
- ztráta imunoreaktivity na tyrosin hydroxylasu se používá k identifikaci dopaminergní buněčné smrti po expozici MPTP

Slovo závěrem.....

Nepochopené chování nemusí
být nutně důsledek intoxikace
nervového systému ..



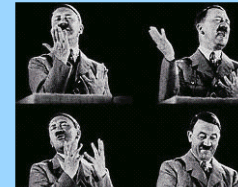
Brain and Nervous System



Mate
Selection



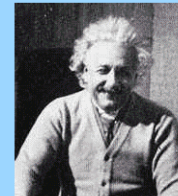
Spoken Language



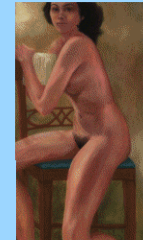
Nonverbal Communication



Miscellaneous Stuff



Consciousness and Intelligence



Gender and
the Brain



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