

Základy Toxikologie

KBB/ZTOX



doc. Ing. Radim Vrzał, Ph.D.





Úvod do klinické a forenzní toxikologie, Odhad rizik



Cíle:



- ✘ Seznámit s cíli a přístupy klinické a forenzní toxikologie
- ✘ Seznámit se s odhadem zdravotních rizik



Klíčové pojmy:

Otrava, Laboratorní analýza, Dekontaminace



Forenzní toxikologie

= použití toxikologie pro právní účely

Aktivity s ní spojené: - testování moči na přítomnost léčiv

- regulační toxikologie

- choroby z povolání

- identifikace původců vedoucích ke smrti
či poranění

- svědectví v soudní síni a konzultace
týkající se toxikóz



Základy forenzní toxikologie

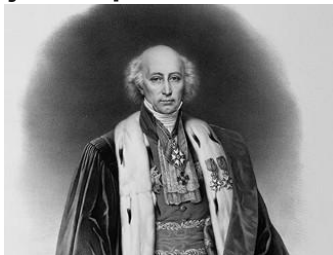
- až do 18.st.n.l. – rozsudky související s vraždou v důsledku otrav byly založeny na nepřímých důkazech než na identifikaci sloučeniny u oběti

- 1781 – J.Plenic = jediným důkazem otravy je detekce a identifikace jedu v orgánech zesnulého

- 1836 – J.M.Marsh – test na detekci As



- 1813 – M.Orfila – publikace práce na téma jedů a právní medicíny

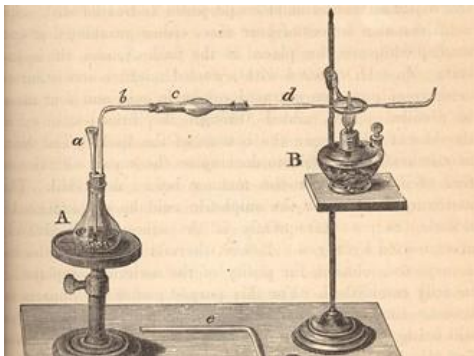


proof of global warming



- 1839 – Orfila použil Marshův test v případě otravy manžela Marie Lafarge

Základy forenzní toxikologie II.



Princip Marshova testu

- A = obsah žaludku + Zn
- c = vodík vytvořil hydrid As
- B = rozklad AsH_3 a vznik zrcátka

Modifikace – E.W.H.Gutzeit – Gutzeitův test – vznikající AsH_3 reaguje s papírem namočeným $\text{HgCl}_2 \rightarrow$ vznik žlutého až hnědého zbarvení dle koncentrace **Arsenu**

- 1918 – vznik toxikologické laboratoře „Medical Examiner's office and Toxicology Laboratory“ v New Yorku – **A.O.Gettler** = otec Americké toxikologie



Vyšetřování smrtí spojených s otravou

Fáze vyšetřování: - sběr informací a vzorků
- toxikologická analýza
- interpretace dat

Otázky k zodpovězení: - cesta vstupu ?
- dávka ?
- je koncentrace vysoká tak že by způsobila

smrt či vážné poranění?

Sběr dat: - většinou málo fyzického materiálu
- pohlaví, věk, hmotnost oběti, lékařská minulost, identifikace jakéhokoliv použití léčiv
- specifické postupy – různé tkáně
- sběr vzorků před balzamováním
- vzorky z ohořelých pozůstatků – kostní dřev, vlasy, červi, sklivec
- preservativa – NaF – prevence vzniku bakteriálního alkoholu



Vhodnost analýzy

Dokumentace -

Jaká metoda ?

- množství vzorku
- podstata škodliviny (toxikantu)
- nutnost detekce parentální sloučeniny či metabolitů?
- biotransformace – nízká koncentrace parentální sloučeniny vs. nízká hladina expozice



Zdravotník 2487, 779 00 Olomouc
Tel. 585 441 111, E-mail: info@fnol.cz
IČ: 00098992

ŽÁDANKA O TOXIKOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Fm-L009-035-SOUD-001

Ústřední soudní lékařství a medicínské právo
gsoudni@fnol.cz, příjem materiálu tel.: 585 632 611.
Doručovací adresa: Dostávba TÚ LF, Hněvotínská 3, 779 00 Olomouc

verze č. 7, str. 1/1

PACIENT

ID - číslo pojistěnce: (není-li ID, pak datum narození)		Pojistovna:	Datum a čas odběru:		
Jméno:		Příjmení:	Datum a čas příjmu: (vzorku laborator)		
☐ M	☐ Ž	Diagnóza:	STATIM (okamžitě)	Ano	Ne

ŽADATEL

Razítko pracoviště: (adresa, IČP, odbornost)	Razítko, IČL a podpis lékaře:	Telefon žadatele:
---	-------------------------------	-------------------

X	Krev (8 ml)	X	Moč (50 ml)	X	Žaludeční obsah (50 ml)	X	Jiný materiál (uveďte)
	Ethanol		Ethanol		Medikamenty		
	Methanol		Methanol		Jiné (uveďte):		
	Jiné těkavé látky		Jiné těkavé látky				
	Medikamenty		Medikamenty				
	Paracetamol (hladina)		Nárykové látky				
	Ethylenglykol		Ethylenglykol				
	Toxiny hub		Toxiny hub				
	COHb		Ethylglukuronid (metabolit ethanolu)				
	Jiné (uveďte):		Jiné (uveďte):				

Předpokládaná škodlivina:
Čas od intoxikace (hod.):
Léky podané před odběrem biologického materiálu:
Průběh intoxikace (příznaky):
Další sdělení:

Druh biologického materiálu (BM) a požadované vyšetření vyznačte ☒

Pro jiný materiál nebo jiné (neuvedené) vyšetření kontaktujte laboratoř na nepřetržitém telefonním čísle 585 632 611.

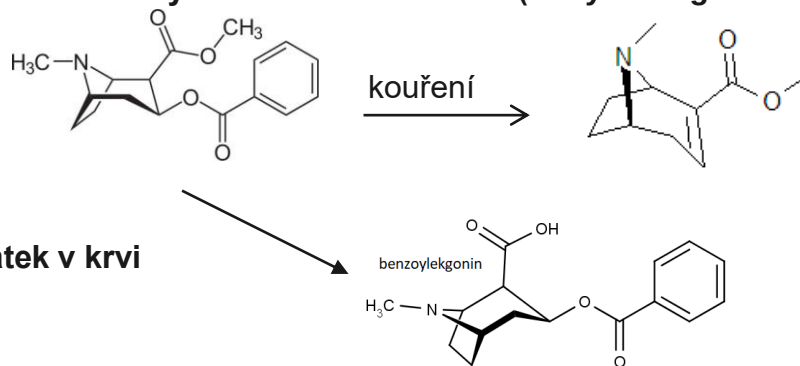
Podrobnosti k odběru BM a spektru vyšetření viz katalog laboratorních vyšetření FNOL <http://laboratore.fnol.cz/>

Číslo vyšetření LSOD (vyplní laboratoř)

Koncentrace a distribuce škodliviny

V místě podání je největší koncentrace !!!

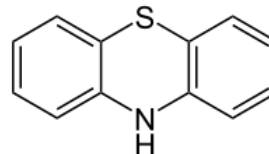
- např. velké množství v GIT → orální podání
- demonstrace absorpce a distribuce = analýza krve a tkáně
- vysoká koncentrace v plicích → inhalace
- detekce rozkladných produktů spalování → kouření byla cesta administrace (anhydroecgonine methylester – produkt kouření kokainu)



- analýza moči
- analýza jater – biotransformace
- postmortem redistribution – koncentrace látek v krvi jsou rozdílné dle místa odběru

Laboratorní analýzy

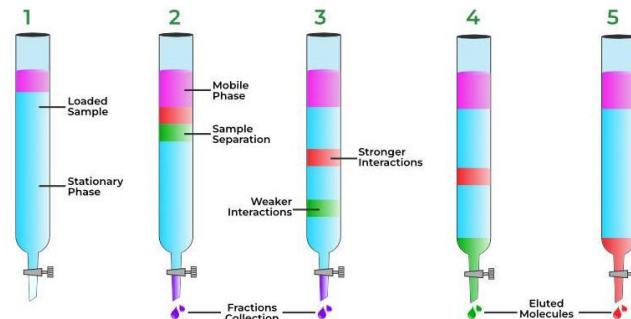
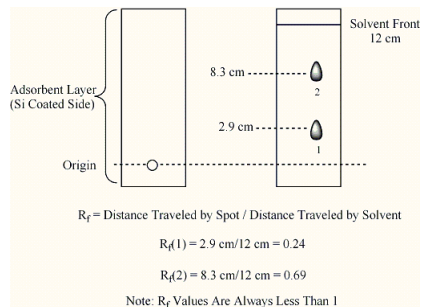
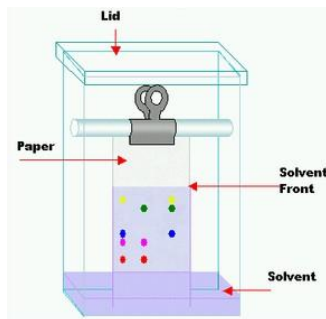
Kolorimetrické testy (fenothiaziny)



Termální desorpce – zahřátí a odpaření vody a organických sloučenin – analýza pomocí GC (plynová chromatografie)

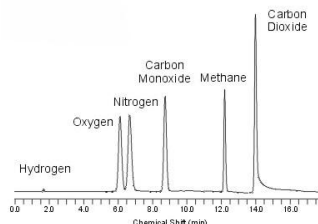
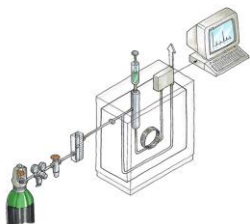
Tenkvrstvá chromatografie (TLC)

- separace dle rozpustnosti – retardační faktor (R_f)

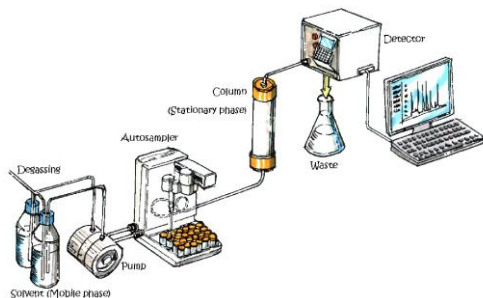


Obecný princip = separace

Plynová chromatografie (GC) – vypaření vzorku a transport plynem skrz kolonu s adsorbovanou kapalinou – retenční čas + detektor



Vysoko-účinná kapalinová chromatografie (HPLC) – mobilní fází je rozpouštědlo



Detekce - hmotnostní spektrometrie

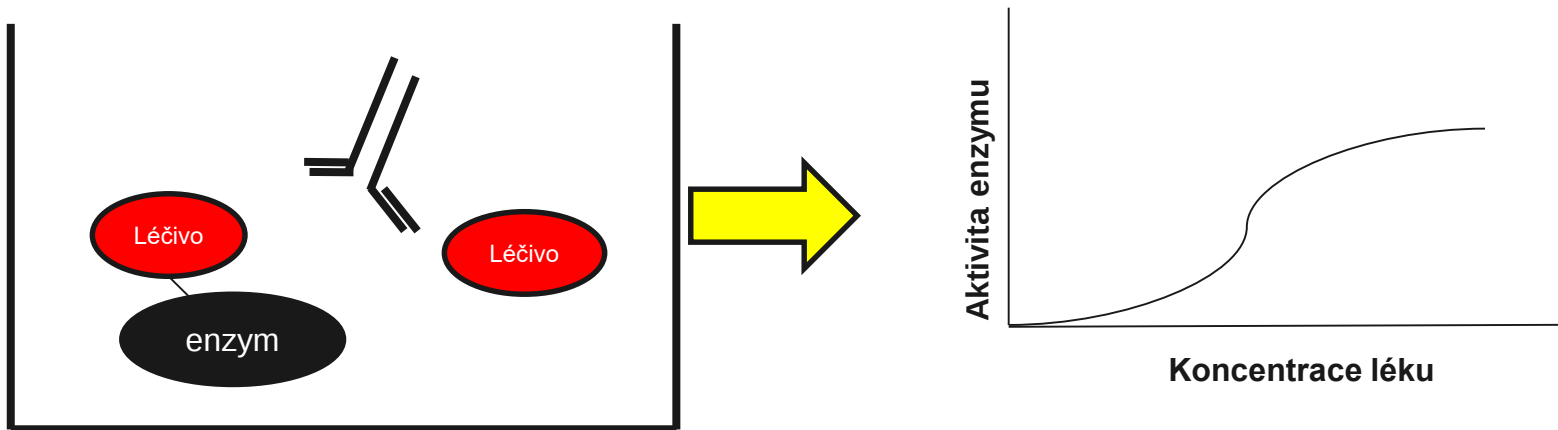
- spektrofotometr (absorbance, fluorescence)



Laboratorní analýzy IV.

Enzymová imunoanalýza (EIA)

- enzym s navázaným lékem – kompetice s volným lékem o protilátku
- čím více volného léčiva, tím větší enzymatická aktivita



Laboratorní analýzy V.

Volatile Screen – těkavé látky (alkohol)

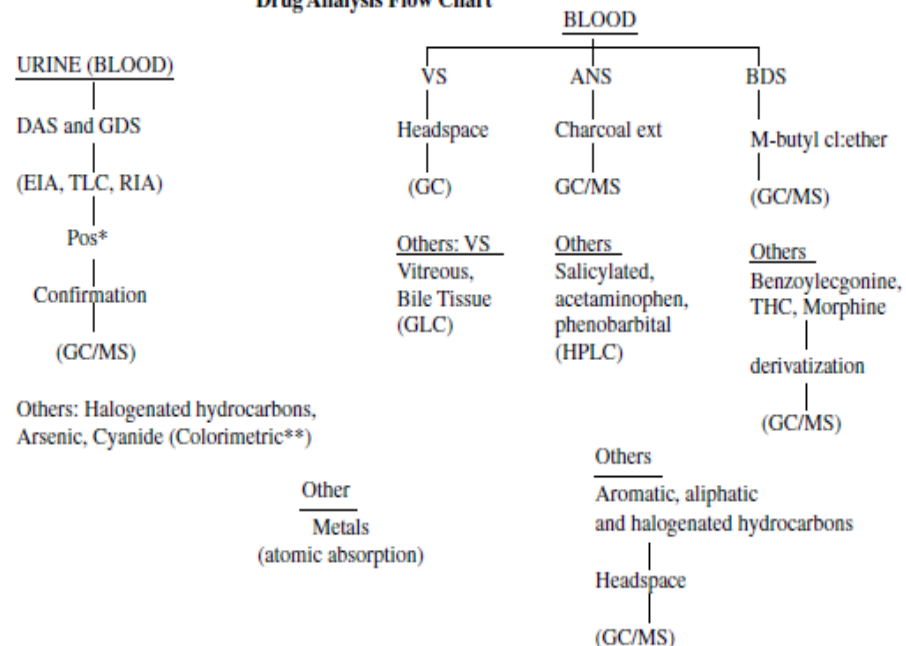
Drugs of Abuse Screen – návykové látky
(amfetaminy, kokain, marihuana)

General Drug Screen – příčina smrti neznámá

Acidic/Neutral Screen – barbituráty, svalové relaxanty

Basic Drug Screen - kokain, antidepresiva

Drug Analysis Flow Chart



*If a drug is detected then the appropriate blood screen is conducted

**If a colorimetric test is positive, an appropriate confirmation is performed.

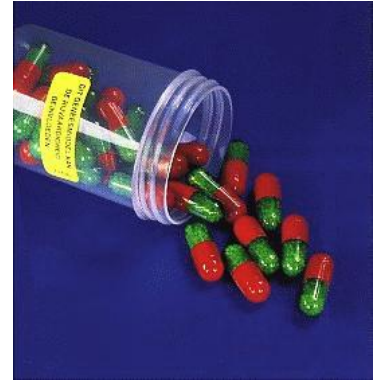
Klinická toxikologie

Podobné jako u forenzní toxikologie

- Výhody: - pomoc v diagnóze a léčbě toxikóz
- monitoring účinnosti léčby
- identifikace podstaty expozice
- kvantifikace škodliviny

Historie braní léků

- identifikace co, kdy, kolik a jak
- znalost dřívějších stavů či alergií
- identifikace požívání jakýchkoliv látek v současnosti
- zda je pacientka těhotná



Základní pravidla v léčbě toxikóz

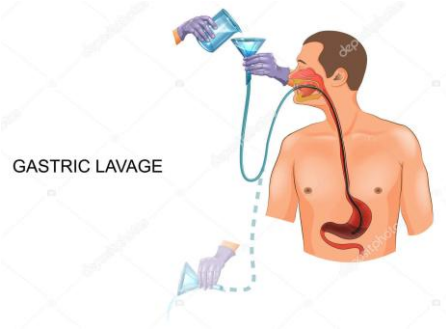
- Zajistit přístup vzduchu
- Odstranit neabsorbovaný materiál
- Omezit další absorpci škodliviny
- Urychlit eliminaci škodliviny

Dekontaminační procedury !!!

- externí / kožní dekontaminace – odstranění oblečení, omytí oběti
- **vnitřní dekontaminace** – výplach žaludku, použití aktivního uhlí



- **Výplach žaludku** („laváž“) – použití několik málo hodin po požití život ohrožující látky



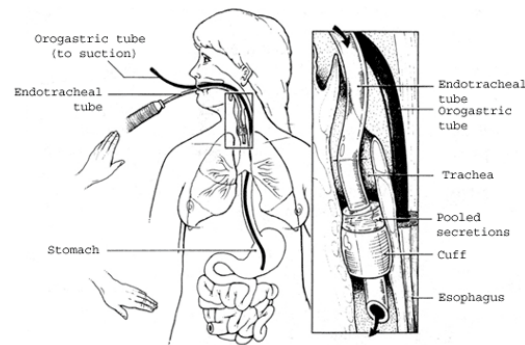
- **Zavlažování střeva** (whole bowel irrigation, WBI) – infuze isoosmotického elektrolytu (polyethylen glykol, PEG)

- po požití kovů (Fe, Li), látek s kontrolovaným uvolňováním, anticholinergní léčiva (karbamazepin), množství tablet

- orálně či pomocí naso- / orogastrické trubičky



PEG



- **Aktivované / aktivní uhlí** – zhoršení enterohepatální cirkulace (karbamazepin, digoxin, theofylin, verapamil)



- **Projímadlo** – s uhlím ke zvýšení motility střev, nedoporučuje se při otravách s průjmy (Organofosfáty, As, Karbamáty)

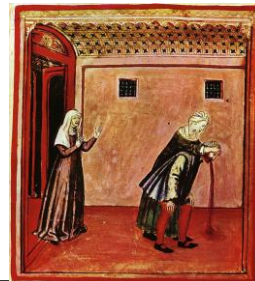


glycerin



laktulóza

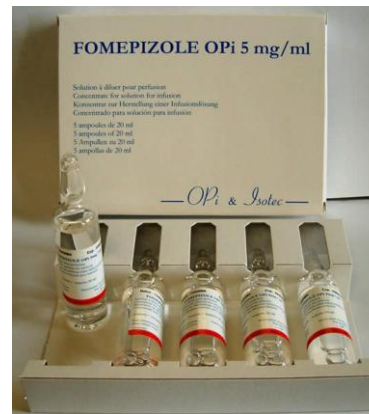
- **Zvracení** – nedoporučuje se – možnost vdechnutí zvratků – v USA – Syrup of Ipecac (Hlavěnka dávivá)



Přístupy k jednotlivým otravám

Otrava ethylen glykolem

- oxidován ADH na směs aldehydů, karboxylových kyselin a oxalové kyseliny
- nefrotoxikóza
- fomepizol či ethanol jsou protijedy

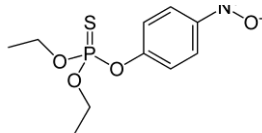
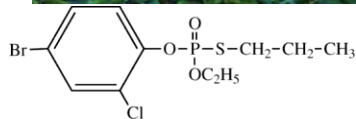


Otrava ethanolem

- podpůrná léčba ke kontrole acidózy a hypoglykemie

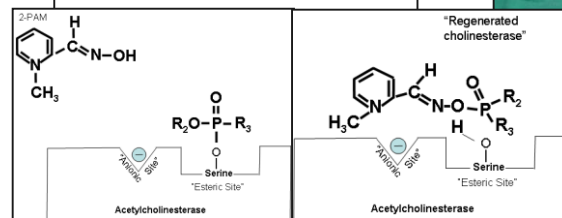
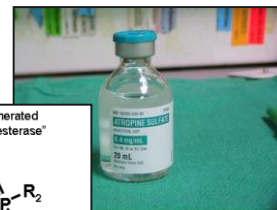
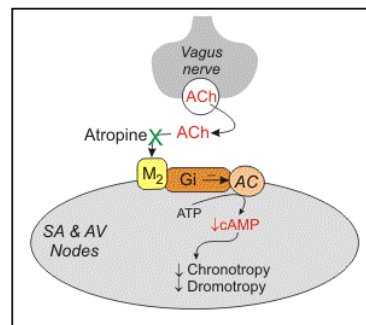
Otravy organofosfáty (OF) a karbamáty

- inhibice cholinesterasových enzymů
 - acetylcholinesterasa – neurosynapse – inhibice kovalentní modifikací – regenerace enzymu dny až měsíce (OF)
 - butyrylcholinesterasa – plasma + pankreas – inhibice iontovou vazbou minuty až hodiny (OF, karbamáty)
- OF – respirační selhání – umělé dýchání



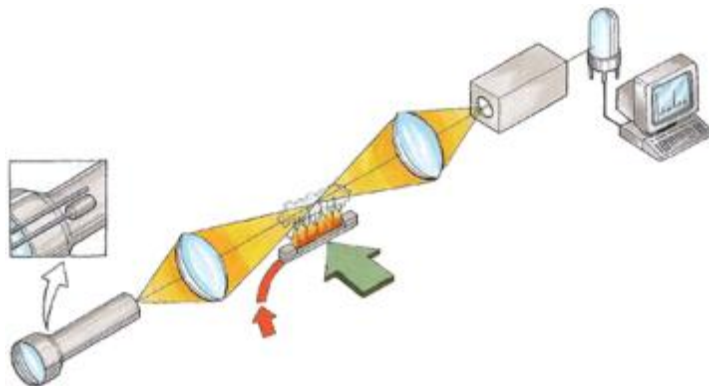
Léčba:

- atropin – kompetice s acetylcholinem
- N-methylpyridinium 2-aldoxime (2-PAM)



Otrava arsenem

- inhibice pyruvát dehydrogenasy
- As v moči je nejlepší indikátor, **vlasy, nehty**
- detekce pomocí AAS (atomová absorpční spektroskopie)
- chelatační terapie – BAL, DMSA, DMPS, penicilamin



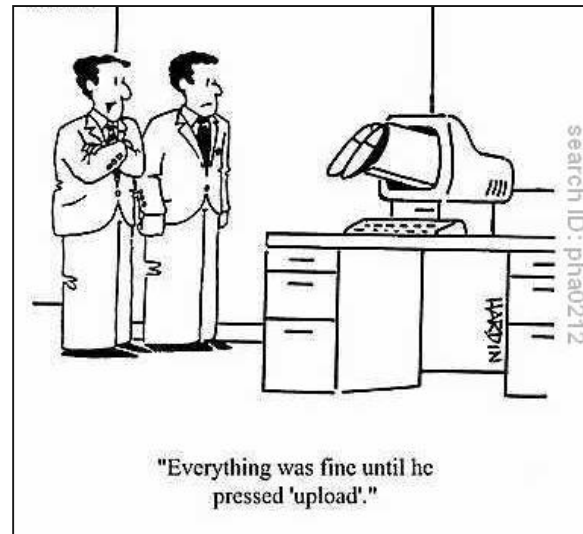
Odhad zdravotních rizik pro člověka

Odhad rizik (risk assessment) – **systematická charakterizace potenciálních nepříznivých účinků následující po expozici nebezpečným sloučeninám**

- identifikovat
 - popsat
 - kvalifikovat a kvantifikovat data z toxikologických studií
- přenos ze zvířat na lidi – extrapolací vzniká nejistota



Formulace **Řízení rizik (risk management)** – sociální důležitost rizik, přijatelné riziko, ekonomika, snížené/nesnížené riziko, **zhodnocení, rozhodnutí, implementace**



Odhad zdravotních rizik pro člověka



4 komponenty:

- **identifikace nebezpečí** (hazard)
 - **odhad vztahu dávka-odpověď**
 - **odhad expozice** (exposure)
- charakterizace rizika

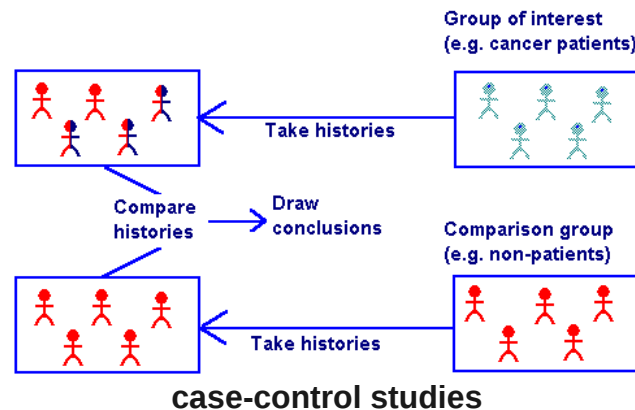
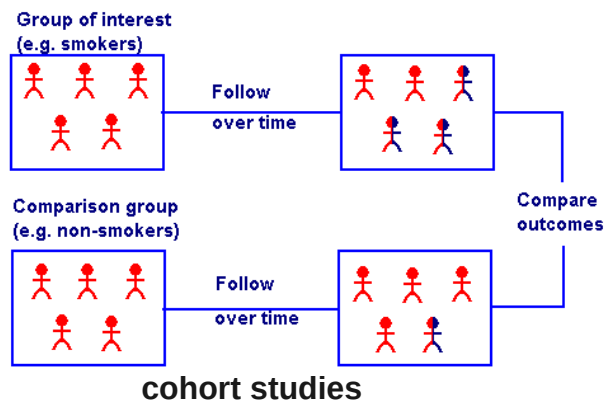
$$\text{RISK} = \text{HAZARD} \times \text{EXPOSURE}$$

Metody odhadu rizik

Identifikace nebezpečí (**Hazard identification**, HAZID)

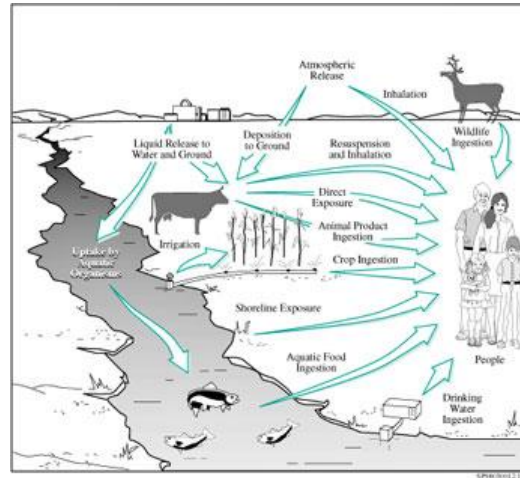
- **kauzalita** – vztah mezi látkou a účinkem
 - správnost toxikologických dat
 - závažnost důkazů
 - zobecnění dat pro exponovanou populaci
- **limitní množství dat** → structure activity relationship (SAR) a krátkodobé analýzy mohou svědčit pro nebezpečí
- **zvířecí studie** – 2 druhy, obě pohlaví – nemusí být vhodné – rozdílný mechanismus (potkani a lidé – podobná citlivost k aflatoxinu B1, nikoliv u myší)

- **epidemiologické studie** – nejrelevantnější i s nevýhodami (životní styl, genetické variace)
 - cross-sectional studies – sběr vzorků bez ohledu na nemoc, identifikace rizikových faktorů a vztah pro celou populaci
 - cohort studies – sběr vzorků na základě expozice, monitoring exponovaných i neexponovaných jedinců na výskyt nemoci
 - case-control studies – sběr vzorků na základě nemoci, porovnání nemocných a zdravých jedinců



Odhad expozice (exposure assessment)

- pokus identifikovat potencionální či celý průběh expozice vyplývající z kontaktu mezi látkou a populací vystavenou riziku
- zahrnuje demografická data
- expozice může být nakupená (jedna událost) či kumulativní (více látek s podobným mechanismem)
- biomonitoring, vývoj modelů
- LADD (lifetime average daily dose) = výpočet pro jednotlivce exponovaných hodnotám blízko středu distribuce – 5 kategorií (děti až dospělí)
- Pracovně expoziční limity (OELs)



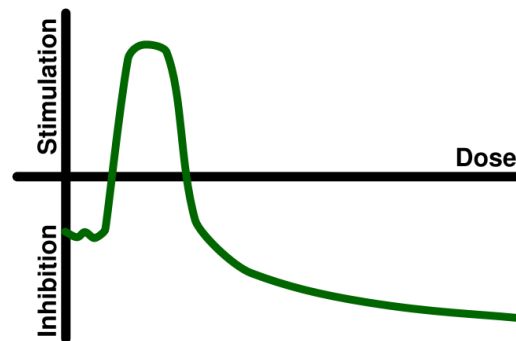
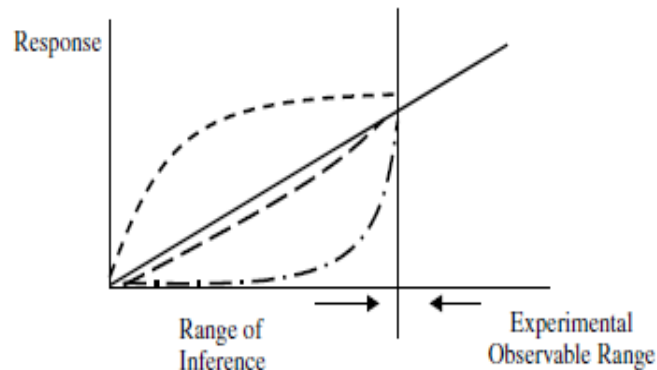
Human Exposure Assessment:



Odhad vztahu dávka-odpověď

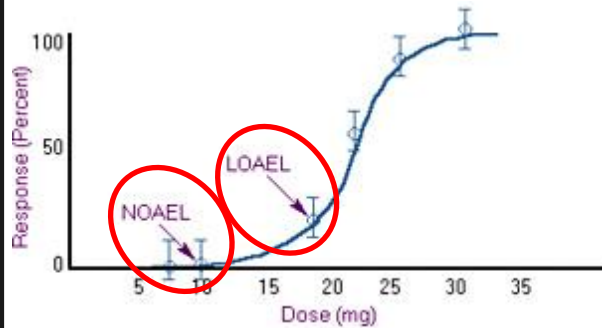
- charakterizace vztahu mezi dávkou a nepříznivým účinkem
 - LD50, ED50, NOEL, limity bezpečnosti
 - dle závislosti lze usuzovat na homogenitu odpovědi
 - vztah pod experimentálně pozorovaným rozmezím → rozsah interference
-
- zvláštní tvar závislosti – U, J křivky = **hormese**
 - organické Pb – rychlost periferní nervové vodivosti
 - Alkohol, nikotin

→ Lineární extrapolace nepřípustná



Odhad nekancerovního rizika

- Předpoklad prahu (prahové hodnoty, NO(A)EL)
- Malá množství tolerována – hledá se maximální podprahová hodnota
- Definice: referenční dávka (**RfD**), referenční koncentrace (**RfC**) – **EPA**
 - minimální rizikové hladiny (MRLs), přijatelný denní příjem (ADI)



$$RfD = \frac{NOAEL}{(UF * MF)} \quad MRL = \frac{NOAEL}{UF}$$

UF – nejisté faktory (většinou 100 u EPA)

MF – modifikační faktory (1-10 dle profesionálního uvážení)

Less Serious

Reversible cellular changes
Necrosis, metaplasia, or atrophy

Delayed ossification
Alteration in offspring weight
Altered T-cell activity
Auditory disorders
50% Reduction in offspring

Serious

Death
Cancer
Clinically significant organ impairment
Visceral or skeletal abnormalities
Cleft palate, fused ribs
Necrosis in immunologic components
Visual disorders
Abnormal sperm

-Odhadce může získat mnohé studie s rozličnou hodnotou NOAEL

- Co je nepříznivý (toxický) účinek?

-Některé efekty vynechány

Naftalen

- **orální RfD – 0.02 mg/kg/den**

= (Battelle. Subchronic toxicity study: Naphthalene (C52904), Fischer 344 rats. Report to US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC, by Battelle Columbus Laboratories, Columbus, OH, 1980.)

- snížená tělesná hmotnost nejcitlivější výsledek expozice potkanů Fischer 344 dávám 0, 25, 50, 100, 200, 400 mg/kg 5 dní v týdnu, 13 týdnů

- přepočet na dny – 0, 17.9, 35.7, 71.4, 142.9, 285.7 mg/kg/den

- NOAEL pro > 10% pokles tělesné hmotnosti = 71 mg/kg/den

- UF navržen 3000 =

10 - extrapolace z potkanů na člověka

10 - variace mezi lidmi

10 - extrapolace ze subchronické na chronickou dávku

3 - nedostatečnost v databázích

Odhad kancerovního rizika

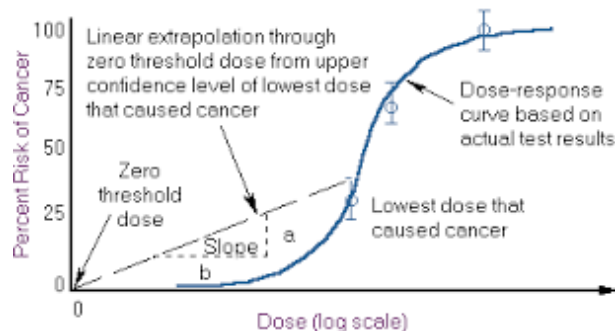
Předpoklad **neexistence prahové hodnoty** – malý počet změn uvnitř buňky → nekontrolovatelná proliferace

EPA užívá dvoudílné zhodnocení:

- látce je přiřazena dle závažnosti důkazů klasifikace
- je kalkulován „**slope factor**“ – faktor směrnice

1) určení pravděpodobnosti že látka je lidský karcinogen – důkaz ze studií na zvířatech a lidech – množství důkazů: dostačující, limitní, nepřiměřené, žádná data, důkazy bez efektu (*viz. IARC, EPA – lekce 8*)

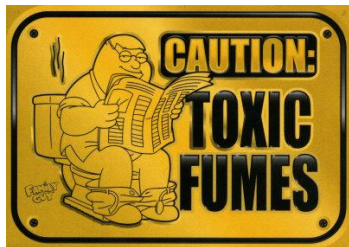
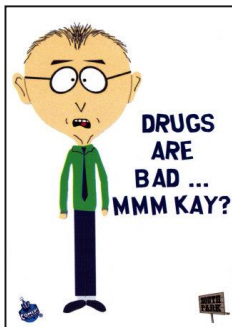
2) kvantifikace rizika – **směrnice** – odhad horní hranice pravděpodobnosti odpovědi na jednotku pozřenou za život (1/ (mg/kg/den))



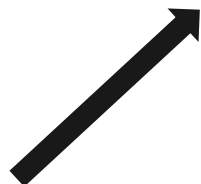
Slope factor = Risk per unit dose
= Risk per mg/kg-day.

$$\text{Risk} = q_1 * [\text{risk} \times (\text{mg/kg/day})^{-1}] \times \text{exposure (mg/kg/day)}.$$

Riziko = pravděpodobnost vývinu rakoviny



Slovo závěrem....



?

To, co víme nám
pomáhá identifikovat
to, co nám škodí či to,
čeho by jsme se měli
vyvarovat !!!





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