

TOKSIKOLOGIJA – odgovori na vprašanja iz ppt

TOKSIKOLOGIJA

V literaturi poiščite najbolj odmevne zastrupitve z različnimi snovmi!

- Sokrat - pegasti mišnjak
- Politik Viktor Juščenko - dioksin
- Nigerijci v rudniku - svinec
- Bolezen Minamata - živo srebro
- Pomor čebel - klotianidinom, nikotin
- Meso krav - aflatoksin
- Menjava topila pri protibakterijskemu zdravilu - sulfanilamid: dietilen glikol
- Zdravilo za pomirjanje pri nosečnicah - talidomid

Kateri so najpomembnejši faktorji, ki vplivajo na toksičnost snovi?

- **fiz-kem** lastnosti snovi (toksoforne skupine – elektrofilnost, reaktivnost ...)
- **biološki faktorji** (interakcije v organizmu, tvorba reaktivnih presnovkov)
- **odmerek** (c, količina)
- **način in trajanje** izpostavljenosti
- ...

Zakaj je prihajalo in še prihaja do zastrupitve z različnimi snovmi?

Zaradi: neinformiranosti, pomote, nepazljivosti, nepoznavanja snovi, naklepnega umora, samomora ..

Navedite, katere snovi so najmočnejši naravni in sintezni strupi!

Naravni: botulinus toksin, tetanospazmin, palitoksin, difteria toksin, aflatoksin.. ...

Sintezni: TCDD (dioksin), sarin, paration, Na-cianid, DDT ...

+ polonij, arzen, živo srebro ...

Principles of Biochemical toxicology poglavji 1,2

VREDNOTENJE TOKSIČNOSTI SNOVI

1. Katere toksikološke parametre bi morali določiti za oceno meje varne uporabe snovi?

MoS=meja varne uporabe. Potrebujemo NOAEL in SED.

2. Katere toksikološke teste bi morali uporabiti za določitev parametrov za oceno varne uporabe snovi?

Teste akutne toksičnosti za določitev LD50 IN LC50.

Teste toksičnosti pri ponovljivih odmerkih za NOAEL IN LOAEL.

3. Zakaj je pomembno ocenjevanje varne uporabe snovi in kakšna regulativa je s tem povezana?

Zato, da ne pride do škodljivih učinkov za zdravje ljudi in ostalih organizmov, ter do neželenih vplivov na okolje. S tem je povezana uredba Evropskega parlamenta in Sveta

Evrope - smernice REACH (uredba o registraciji, ocenjevanju, dovoljevanju in omejevanju kemikalij)

4. Kako je definiran ADI in za oceno uporabe katerih snovi ga uporabljamo?

ADI ali *acceptable daily intake* je največji dnevno sprejemljiv vnos/sprejemljiva dnevna doza neke snovi, pri kateri ne pride do neželenih učinkov (mg/kg TT).

Običajno se nanaša na aditive v hrani (snovi, namenoma dodane hrani).

5. Naloga

Učinke izpostavljenosti biocidu so določali s kronično študijo na podganah. Ugotovili so, da ima biocid nefrotoksično delovanje. NOEL vrednost je znašala 4 mg/kg/dan, LOEL vrednost pa 8 mg/kg/dan. V študiji je bil biocid apliciran peroralno, biološka uporabnost pa je bila 85%. Potencialna dermalna izpostavljenost pri ljudeh je 80 mg/biocida na dan, dermalna absorpcija pri ljudeh pa je 1,5%. S pomočjo AEL pristopa opredeli tveganje biocida za zdravje ljudi (povprečna telesna teža je 60 kg, povprečna površina telesa pa je 1,6 m²).

RCR = 0,59 < 1...TVEGANJE NE OBSTAJA, JE KONTROLIRANO

Literatura: Principles of Biochemical toxicology, poglavje 2 Spletne strani ICH, ECHA, OECD, EMA, FDA

FAKTORJI, KI VPLIVAJO NA TOKSIČNOST SNOVI

1. Kateri so najpomembnejši faktorji, ki vplivajo na toksičnost snovi?

- **način izpostavitve** (peroralno, perkutano, z inhalacijo)
- **fiz-kem last.** (lipofilnost, velikost, kem. struktura, reaktivnost, kislost/bazičnost, kiralnost ...)
- **biološki faktorji** (vrsta, spol, genetske last.; starost, biološki ritem, stres, prehrana, encimska indukcija/inhibicija, bolezni ...)

2. Zakaj je način izpostavitve pomemben za razumevanje toksičnosti snovi?

Zaradi različne encimske sestave tkiv in razlik v transportnih sistemih glede na tkiva. Sistem se različno odzove ob izpostavitvi na razl. mestih (razl. ADME - absorpcija, distribucija, metabolizem, eliminacija). Snovi so lahko bolj toksične ob nekem načinu vnosa, v primerjavi z drugimi...

Načini izpostavitve:

- perkutano (dermalno)
- z inhalacijo
- per os (peroralno)

- intravensko
- intramuskularno, subkutano ...

3. Zakaj so genetske razlike znotraj vrste vzrok za različen odgovor na vneseno snov. Navedite primer!

Zaradi razlik v encimski sestavi in aktivnosti – npr. nekateri presnavljajo laktozo, drugi pa ne ...

+Razlike:

- fiziološko stanje (spol, starost)
- genetski polimorfizem → vpliv na metabolizem (encimi ...)
- razlike v prehrani, izpostavljenosti snovem (indukcija, inhibicija encimov)
- obolenja (diabetes, vnetja)
- stres, cirkardialni ritem

4. Zakaj je pomembno poznavanje spojin, ki inducirajo ali zavirajo encime v povezavi z razlago toksičnosti spojin?

Zato, ker lahko pride ob kombinaciji s toksično snovjo (TS) do večje/manjše presnove snovi, s tem pa do večje/manjše toksičnosti.

- indukcija metabolizma + TS (netoks. presnovek) → zmanjšanje toksičnosti
- indukcija m. + TS (toks. presnovek) → večja toksičnost
- inhibicija m. + TS (toks. presnovek) → manjša toksičnost *
- inhibicija m. + TS (netoks. presnovek) → večja toks.

* toksični presnovek nastaja počasneje, se sproti lahko izloča

Npr. paracetamol – toksičen je presnovek, zato ob povečani aktivnosti encimov (alkoholiki, indukcija) pride do večje toksičnosti, saj toksičen presnovek hitreje nastaja, se nakopiči, se ne more lepo sproti odvajati iz organizma in poškoduje organizem.

Literatura: Introduction to Toxicology, 49-53

REAKTIVNI PRESNOVKI IN TOKSIČNOST

1. REAKTIVNI ELEKTROFILI/POSLEDICE

2. RADIKALI/POSLEDICE POSLEDICE OKSIDATIVNEGA STRESA

1. Na osnovi metabolične pretvorbe tetrakloroogljika (CCl₄) razložite, zakaj povzroča lipidno peroksidacijo in kakšna je posledica za celice?

- TCM vstopa v organizem skozi dihala, se predvsem v jetrih pod vplivom encima Cyp 2E1 (citokrom) prevori do triklorometilnega radikala (CCl₃·), ki se pod aerobnimi pogoji pretvori do triklorometilperoksilnega radikala, ki je zelo reaktiven. Kovalentno se veže na lipide (nenasičene MK v membrani hepatocitov) in pride do nastanka ROS (peroksilni radikal) in lipidne peroksidacije. To vodi do spremembe v homeostazi Ca²⁺ v celici, kar lahko vodi v apoptozo celic.

- Tetrakloroogljik = tetraklorometan = TCM je hlapna tekočina, težja od zraka, ki v organizem vstopi z inhalacijo (običajno). Podvržen je predvsem metabolizmu v jetrih. Pri nižjih koncentracijah je pomemben encim Cyp 2E1, pri višjih pa Cyp 3A. Izoencim (običajno Cyp 2E1) katalizira reduktivno deklorinacijo TCM, pri tem nastane triklorometilni radikal (CCl₃·), ki se pod

ANAEROBNIMI POGOJI: veže na proteine, lipide, reagira z vodikom (nastane kloroform),

dimerizira

do heksakloroetana, se naprej reducira do CO.

AEROBNI POGOJI: reagira s O₂, tvori triklorometilperoksilni radikal (CCl₃-OO·). Ta je zelo reaktiven –

začne lipidno peroksidacijo ali naprej reagira do fosgena (COCl₂), ki se nato s

hidrolitično deklorinacijo pretvori v CO₂.

Škodljivi presnovki: ROS, fosgen, diklorokarben

2. Na osnovi poznanih encimskih reakcij razložite, zakaj je alkohol toksičen za celice?

- etanol + ADH → acetaldehid + ADHL → očetna kislina/acetat (pH)

Etanol se v citosolu hepatocitov z ADH pretvori do acetaldehida. Pri tem pride do povečane konc. reducirane oblike – NADH. Enako tudi nato v mitohondriju, pri pretvorbi acetaldehida z ADHL do očetne kisline oz. acetata (odv. od pH).

Ob izpostavljenosti ↑c etanola pride do reakcije po drugi poti – MEOS s Cyp2E1.

- Alkohol je toksičen zato, ker:

- **moti Krebsov cikel** (ciklus trikarboksilnih kislin), **oksidacijo maščob** (zaradi zmanjšanja oksidirane oblike NAD⁺, povečanja reducirane NADH oblike), **presnovo AK**,
- **inhibira glukoneogenezo** (vodi v hipoglikemijo),
- vodi do tvorbe **ketonskih teles**,
- povečanja **c piruvata** in **oksalooacetata**, **glicerola** in **laktata** (acidoza).
- Glavni metabolit je acetaldehid, ki povzroča **peroksidacijo maščob** in **nekrozo hepatocitov**, kar pripelje do **fibroze**.

ADH = alkoholna dehidrogenaza

ADHL = aldehydna dehidrogenaza

MEOS = mikrosomalni etanol-oksidirajoči sistem

3. Kateri encimski sistemi so najpomembnejši za nastajanje reaktivnih presnovkov!

CYP, MP, PHS (citokromi, metaloproteinaze in prostaglandin H sintaze)

4. Zakaj je heksan nevrotoksičen?

n-heksan je alifatski ogljikovodik, ki povzroča periferno nevropatijo (poškodbo živčnih vlaken, ovojnice na periferiji).

Heksan pod vplivom CYP sistema oksidira do 2-heksanola, ki se z ADH pretvori v 2-heksanon in nato s CYP in ADH pride do enakih reakcij še simetrično na drugem C atomu. Nastane 2,5-heksandion, ki je elektrofilen, reagira z nukleofili – z mielinom v živčni obojnici (lizin), nastane imin. Ta kondenzira do pirolnega derivata (dimetil pirolil derivat), pride do proteinskega adukta(?), avtooksidacije, prečnega premreževanja proteinov in s tem do periferne nevropatije. Razlog je, da tako spremeni mielinsko obojnico, da ta ne more več prenašati signala.

5. Zakaj je benzen nevrotoksičen?

Benzen je lipofilna snov, deluje kot anestetik. Prehaja v kri in zaradi lipofilnost prek krvno-možganske pregrade ter se v možganih lahko tudi akumulira. Zato pride do okvar CŽS in simptomov, kot so: bledica, omotica, rdečica, lahko dispneja, stiskanje v prsih, glavobol, slabost, bruhanje, opotekanje, zaspanost, izguba zavesti, delirij, euforija, koma, smrt. (odv. od c)

Predvidevajo da gre za direkten učinek, ki ni povezan z metaboliti benzena. Vplivi se pokažejo pri izpostavljenosti nad 100ppm.

Literatura: Principles of Biochemical toxicology poglavje 5

VREDNOTENJE TOKSIČNOSTI SNOVI

1. Katere toksikološke parametre bi morali določiti za oceno meje varne uporabe snovi?

LD50, LC50, NOAEL, LOAEL, TLV, BMD, HT25, LTCR, MoS, SED

- toksikokinetika (ADME)
- akutna toksičnost (LD50)
- iritacija/korozija (TER, Episkin)
- senzitivizacija (edem, eritem, rdečica; LLNA, GPMT, Buehler test)
- subkronične študije toksičnosti
- kronična toksičnost (NOAEL, LOAEL)
- karcinogenost (genotoksična/negenotoksična)
- mutagenost/genotoksičnost
- teratogenost/reproduktivna toksičnost

2. Katere toksikološke teste bi morali uporabiti za določitev parametrov za oceno varne uporabe snovi?

itev parametrov za oceno varne uporabe snovi?

- LD50 (ATC, FDM, UDP; smernice OECD + in vitro, fiz.kem., živalske študije)
- LC50 (živalske študije)
- NOAEL (28 - 90 dnevna študija - kronična študija; živali - glodalci)
- LOAEL (enako?)
- SED (testi količine in površine nanosa, št. Aplikacij, meritve TT)
- MoS (določitev NOAEL, BMD, SED)
- ADME (in vitro, ex vivo, človeške/živalske študije, fiz.kem.parametri)
- iritacija/korozija (in vitro: TER, Episkin + človeške/živalske študije, in vitro)
- senzitivizacija (in vivo: LLNA, GPMT, Buehler test; 2 fazi testov: indukcija, elicitacija)
- karcinogenost (študije na ljudeh, živalih, bakterijah)
- genotoksičnost (bakterije - Amesov test)
- reproduktivna toksičnost (ljudje - epidemiološko, prospektivno; živali - teratološka študija, 2-generacijska študija, reproduktivni/develop screening test...)

ATC = acute toxic dose method

FDM = fixed dose method

UDP = up and down procedure

Episkin = rekonstruiran človeški epidermis

LLNA = indukcija primarne proliferacije limfocitov v limfnih vozlih (> 3 je alergen)

GPMT = guinea pig maximization test, potenciranje senzitivacije z adjuvansi (FCA), intradermalna injekcija (nad 30% je alergen)

Buehler test = brez adjuvansa, topikalna aplikacija (nad 15% je alergen)

BMD = spodnja meja statistične zanesljivosti odmerka, ki vodi do majhnega povečanja učinkov v primerjavi s kontrolno vrednostjo

T25 = dozni deskriptor, kronični odmerek, ki povzroča pri 25% osebkih določene živalske vrste tumorje specifičnega tkiva v njihovi standardni življenjski dobi (**HT25** = za ljudi)

3. Zakaj je pomembno ocenjevanje varne uporabe snovi in kakšna regulativa je s tem povezana?

Zato, da pravilno informiramo uporabnike glede uporabe (način, pogostnost...), da zagotovimo varnost izdelka tudi v široki uporabi, predvidimo in preprečimo neželene učinke, napačno uporabo...

Regulativa: Uredba 1223/2009 EU in REACH; za testiranja pa OECD, ECVAM (alternativne metode, 3R)

4. Kako je definiran ADI in za oceno uporabe katerih snovi ga uporabljamo?

ADI (acceptable daily intake) je tista dnevna doza namerno dodanih snovi v hrani (aditivov), ki je varna in ne povzroča signifikantnih neželenih učinkov ob vsakdanji uporabi, celo življenje.

5. Učinke izpostavljenosti biocidu so določali s kronično študijo na podganah.

Ugotovili so, da ima biocid nefrotoksično delovanje. NOAEL vrednost je znašala 4 mg/kg/dan,

LOAEL vrednost pa 8 mg/kg/dan. V študiji je bil biocid apliciran peroralno, biološka uporabnost pa je bila 85%. Potencialna dermalna izpostavljenost pri ljudeh je 80 mg/biocida na dan, dermalna absorpcija pri ljudeh pa je 1,5%. S pomočjo AEL pristopa opredeli tveganje biocida za zdravje ljudi (povprečna telesna teža je 60 kg, povprečna površina telesa pa je 1,6 m²).

GENOTOKSICNOST/KANCEROGENOST SNOVI

1. Kateri del UV sevanja najbolj poškoduje DNA?

UVB (največje spremembe bi povzročal UVC, a ga zadrži ozon).

UVA prodira globlje

2. Katere kemikalije povzročajo pretežno depurinacijo in katere točkovne mutacije?

Kemikalije, ki povzročajo **depurinacijo**: estrogen kinoni

Tvorba substituiranih N7- gvaninov, N3 in 7-adeninov → nestabilni produkti → depurinacija

Kemikalije, ki povzročajo **točkovne mutacije**: oksidiran gvanin

Posledica lahko tudi prekinitev verige. Izguba A ali G

3. Kakšna je vloga inhibitorjev apoptoze pri kancerogenezi?

Če je na tem proteinu sprememba (tumor supresorski protein) - apoptoza ne bo funkcionirala in taka celica ne bo prepoznavna kot spremenjena celica, ki bi jo moral sistem uničiti - nevarna in ne bo propadla (bo nesmrtna).

4. Poiščite vsaj 4 različne učinkovine, ki so kancerogene za človeka in ugotovite zakaj!

Aflatoksin → kovalentna vezava z DNA

2- naftilamin → nitrenijev ion → kovalentna vezava z DNA - rak na mehurju

8-metoksipsoralen s timidinom - interegira z DNA

Dimetilsulfat - direktno interagira z DNA

Benz(a)piren - z metabolično reakcijo se spremeni v karcinogeno snov

Dimetil sulfat- alkilirajoča kemikalija - direktno interegira z DNA

Literatura: Principles of Biochemical toxicology poglavje 6, primeri iz poglavja 7

IMUNOTOKSIČNOST SNOVI

1. Bili smo večkrat izpostavljeni kemikaliji, ki je po metabolični aktivaciji sposobna tvorbe ROS. Razložite, kako lahko taka kemikalija povzroči neželene imunske reakcije!

ROS reagirajo z DNA matičnih celic kostnega mozga - nastajanje nepravilnih celic imunskega sistema - neželene imunske reakcije.

2. Poiščite 3 spojine v različnih izdelkih, ki povzročajo kontaktni dermatitis!

Linalol, limonen, benzil alkohol, geraniol, citronellal

3. Kako UV žarki vplivajo na imunski sistem?

Imunosupresivno delovanje na koži in tudi sistemsko. Učinek imajo na DNA, lipidno peroksidacijo membran. Možnost razvoja kožnega raka.

4. Zakaj je lahko halotan imunotoksičen?

Halotan lahko povzroča preobčutljivostno reakcijo tipa 2 ali 3?

Je plin, anestetik. Povzročča poškodbe jeter, zaradi imunotoksične reakcija. Ab reagirajo s presnovki (ROS) halotana v jetrih (trifluoroacetilirani proteini).

Halotan tako spremeni proteine jetrnih celic, te postanejo telesu tuje snovi, zato jih limfociti T prepoznajo kot tuje in nanje reagirajo- pride do lize celic in posledično do hepatitisa.

5. Zakaj je pomembno ravnovesje med Th1 in Th2?

Če se ravnovesje podre, zbolimo za avtoimuno boleznijo (preveč Th1) ali za rakom (preveč Th2).

Literatura: Principles of Biochemical toxicology poglavje 6, primeri poglavje 7

HEPATOTOKSICNE/NEFROTOKSICNE SNOVI

1. Zakaj so jetra najpogosteje organ, kjer povzročajo spojine toksične učinke?

- ker **filtrirajo vso kri** iz telesa - jetrna arterija, vena porte(=spodnja telesna obvodnica).
- ker so **gosto** premežena **s kapilarami** - snovi dostopajo do skoraj vseh celic.
- ker so **močno metabolično aktivna** - presnavljajo toksične snovi ter nekatere netoksične snovi, ki imajo toksične metabolite.

2. Kateri od halogeniranih alifatskih ogljikovodikov kloroform, tetraklorometan ali diklorometan je po IARC klasifikaciji uvrščen kot najbolj karcinogen za človeka? diklorometan (2A) > kloroform (2B), tetraklorometan (2B)

4. Zakaj je etilenglikol bolj toksičen kot glicerol?

Etilen glikol se pretvori v oksalat ali pa glikolaldehid- pride do metabolične acidoze ali pa do akutne tubularne nekroze. Pri glicerolu pa ni škodljivih presnovkov (glukoza).

Reaktivna presnovka etilenglikola sta oksalat in glikoaldehid, ki inhibirata oksidativno fosforilacijo, dihalno verigo, metabolizem glukoze, sintezo proteinov in NK, inhibirata metabolizem serotonina v CZS. Pojavi se tudi metabolična acidoza. Glicerol se presnovi v glukozo, ki nima elektrofilnih lastnosti.

5. Razložite, na katere sisteme vpliva etanol škodljivo!

Živčni sistem, GIT, reprodukcijski sistem, ledvica, kardiovaskularni sistem.

6. Zakaj je paracetamol hepatotoksičen in nefrotoksičen?

Paracetamol se presnavlja v jetrih in izloča z ledvicami. Del paracetamola se metabolizira s CYP do reaktivnih metabolitov, ki okvarijo jetra, prav tako ledvica. Ledvica se lahko okvarijo zaradi prevelike količine paracetamola, ki se ne more izločiti.

Literatura: Principles of biochemical toxicology, strani 308-335. Principles of clinical toxicology, 75-88

TOKSIKOLOGIJA PRI OCENI TVEGANJA KEMIKALIJ

TOKSIČNOST IZBRANIH ONESNAŽIL IN ADITIVOV

1. Zakaj obravnavamo učinek spojin na endokrini sistem kot neželeni učinek?

Ker spreminjanje hormonskega ravnovesja privede do posledic za razvoj in zdravje ljudi. Vnos takih snovi ni dovolj kontroliran, da bi bil varen in lahko pripelje do neželenih posledic – estrogeni: rak na dojki, materničnem vratu, rast prsi pri moških, zmanjšanje testisov idr.

2. Katere receptorske sisteme modulira BPA?

Receptorje AR, AhR, glukokortikoidne receptorje, estrogenskim podobne receptorje gama

3. Opredelite, kako varni sladili sta aspartam in saharin!

Aspartam V telesu se metabolizira – nastanek metanol, fenilalanin, aspartat (nastajanje toksičnega formaldehida, nevarnosti pri fenilketonuriji, poškodbe možgan)

Saharin se ne metabolizira. Povzroča nastanek tumorja na mehurju pri podganah (pri ljudeh niso dokazali povezave)

4. Kakšni so toksični učinki azo barvil in zakaj do njih pride?

Poznana je kancerogenost aromatskih aminov, zaradi nastanka reaktivnih intermediatov.

5. Na primeru tartrazina razložite toksične učinke azo barvi!

Tartrazin povzroča preobčutljivostne reakcije, poslabšanje astme, urtikarijo, rinitis, navzkrižne reakcije z drugimi barvili, naj bi vplival tudi na hiperaktivnost otrok.

BENZEN

Vnos benzena v organizem je v glavnem preko zraka (zlasti kajenje cigaret) in hrane (primarno v živilu, aditivi), vnos preko vode je manj pomemben.

Po zaužitju se iz prebavil absorbira 100 %, iz vdihanega zraka 30 – 50 % ter nekaj skozi kožo. Porazdeli se po celotnem telesu, ne glede na pot vnosa. Večinoma se presnovi v fenol v jetrih in kostnem mozgu. Akutno, v višjih koncentracijah ima narkotični učinek.

