

## Obecná toxikologie

Obecná toxikologie pojednává o vztazích mezi chemickou látkou a jejím toxickým účinkem na živý organismus. Má tedy mnoho společného s obecnou farmakologií, protože rozdíl mezi toxickým a farmakologickým účinkem je v mnoha případech jen kvantitativní, tzn. že mechanismus toxického účinku chemické látky je totožný s jejím mechanismem farmakologickým. Nemusí tomu však tak být ve všech případech. Obecná toxikologie také používá při vyhodnocování toxického účinku podobných postupů jako farmakologie a obdobného matematického aparátu.

### Vztahy mezi chemickou strukturou látky a toxickým účinkem

Struktura chemické látky je determinujícím faktorem jejího toxického (a také ovšem farmakologického a v širším měřítku řečeno biologického) účinku. V mnoha případech lze proto na základě chemické struktury předpovědět, jaký biologický účinek bude látka vykazovat. Určitá uskupení atomů v molekule (funkční skupiny, molekulární domény) již předem napovídají, jaké biologické účinky můžeme u takové látky očekávat. Postup, při němž z chemické struktury usuzujeme na biologické účinky látky, říkáme **predikce**. Tuto činnost lze svěřit počítači a pro tyto účely jsou vyvíjeny expertní systémy, které mohou řešit takový úkol velmi rychle a často i spolehlivě. Navíc se mohou samy učit a tedy neustále zdokonalovat. Predikční metody hrají významnou úlohu v toxikologii i jiných biologických vědách a mohou v některých případech nahradit i experimenty na laboratorních zvířatech. Vlastní toxický projev chemické látky a jeho intenzita je ovšem ovlivněna celou řadou faktorů. Především dávkou. **Dávka** je chápána jako množství chemické látky (xenobiotika,) které pronikne do organismu. Dávka toxické látky, která ještě nevyvolá pozorovatelnou změnu, je **dávka podprahová**. Nejmenší dávka, která již vyvolá hodnotitelnou reakci je **dávka prahová**, každá dávka vyšší než prahová je **dávka nadprahová**. Již dříve bylo řečeno (Kapitola I), že obecně platí mezi dávkou chemické látky a jejím toxickým účinkem vztah přímé úměrnosti, tzn. že čím vyšší dávka, tím vyšší toxický efekt. Matematický vztah mezi dávkou a toxickým účinkem není nikdy prostá aritmetická úměra, protože vztah mezi dávkou a efektem je logaritmický. Grafickým vyjádřením tohoto vztahu je obecně křivka ve tvaru sigmoidy (Obr. 1). Z ní je možno odvodit některé toxicitní parametry, např. hodnotu střední smrtné dávky ( $LD_{50}$ ) a prahovou dávku. Výpočet těchto parametrů se provádí po linearizaci vztahu dávka-účinek, např. převedením do probit-logaritmické transformace. Takto získaná velikost  $LD_{50}$  je statistickou veličinou, ovlivněnou variabilitou pokusných objektů a tuto míru variability je třeba vyjádřit některým ze statistických parametrů - směrodatnou odchylkou, střední chybou, či intervalem spolehlivosti. **Střední smrtná dávka** (*dosis letalis media*,  $LD_{50}$ ) nemusí být dostatečným parametrem, který charakterizuje toxicitu chemické látky. Důležitá je také strmost sigmoidy, tedy parametr, který sleduje jak rychle se zvyšuje toxicita s rostoucí dávkou (Obr. 2). U látek charakterizovaných strmým stoupáním toxicitní křivky vede již nepatrné zvýšení dávky k rychlému vzestupu toxicity (látka A), zatímco u látek u nichž toxicitní křivka stoupá pozvolna, není závislost toxicity na dávce tak výrazná (látka B).

Obr. 1. Závislost biologické odpovědi (toxicity) na dávce toxické látky.

Pro sledování účinků toxické látky v čase se používá parametr **střední účinná doba** (*tempus effectivum medium*,  $ET_{50}$ ), který označuje časový úsek mezi podáním léčiva a nástupem účinku u 50 % pokusných objektů a **střední smrtná doba** (*tempus letale medium*,  $LT_{50}$ ), udávající časový interval mezi podáním látky a smrtí 50 %

pokusných objektů.

Obr. 2. Závislost biologické odpovědi (toxicity) na dávce u dvou toxických látek (A a B) se stejnou toxicitou ( $LD_{50}$ ), ale rozdílným průběhem toxicitní závislosti.

**Toxicitní parametry** jsou matematické veličiny, které charakterizují toxické vlastnosti chemické látky ve vztahu k biologickému objektu, na něj působí. Z těch nejznámějších jsou to např. parametry  $LD_{50}$ ,  $LC_{50}$ ,  $LT_{50}$  apod., kde číselná hodnota u jednotlivých parametrů udává procento pokusných objektů které vykazují žádaný toxický efekt. Většinou je udáván parametr pro 50 % pokusných objektů. Toxicitní parametry se získávají v experimentu na živém biologickém objektu a hodnoty těchto parametrů jsou nutně zatíženy statistickými chybami, které doprovází každý biologický experiment. Každá hodnota toxicitního parametru je proto statistickou veličinou, charakterizovanou většinou jako aritmetický průměr – směrodatná odchylka, interval spolehlivosti pro určitou hladinu významnosti apod. Přesnost, s jakou je toxicitní parametr změřen, je proto závislá na veličinách ovlivňujících statistické chování pokusného souboru, jako je např. velikost souboru (počet měření), počet dávek a jejich rozložení, objektivizace měření apod. Dále je číselná hodnota toxicitního parametru ovlivňována např. druhem pokusného zvířete (rozdílná citlivost různých druhů zvířat), pohlavím (mohou být rozdíly mezi samci a samicemi), stářím zvířete, způsobem aplikace, roční dobou (sezónní vlivy), denní dobou (cirkadiální rytmy) a celou řadou dalších parametrů. Aby byly experimentálně zjištěné hodnoty toxicitních parametrů zatíženy co nejmenší chybou, je nutno přísně standardizovat podmínky, za jakých jsou měření prováděna a maximálně objektivizovat všechna měření. Dále je nutno mít na paměti, že při práci s

laboratorními zvířaty je třeba se řídit etickými zásadami pro práci s laboratorními zvířaty a že každý takový experiment podléhá schválení Etickou komisí daného pracoviště. **Metody experimentální toxikologie** Experimentální toxikologie se zabývá testováním toxicity chemických látek na živých biologických objektech, kterými mohou být laboratorní zvířata, rostliny či mikroorganismy nebo jejich izolované části (isolované orgány), tkáňové kultury, izolované buňky apod. Testování toxicity umožňuje získat toxicitní parametry, nutné pro posouzení zdravotních rizik chemických látek pro člověka, ostatní živočichy, rostliny apod. a také pro životní prostředí.

### **Faktory ovlivňující toxický účinek chemické látky**

Mimo velikost dávky je toxicita chemické látky ovlivněna ještě řadou dalších faktorů. Z nich je možno jmenovat např. **místo expozice**, tj. místo kudy pronikne chemická látka do organismu. K intoxikaci organismu chemickou látkou může dojít teprve tehdy, až látka překoná vnější bariéru organismu a pronikne do něj. Tomuto procesu říkáme **expozice**. Pokud k expozici nedojde, nemůže látka svůj toxický účinek uplatnit. Místem expozice bývá nejčastěji gastrointestinální trakt (GIT) (perorální intoxikace, p.o), dýchací cesty (inhalační intoxikace), sliznice, neporušená kůže apod. Látka ale může být do organismu vpravena také jinými cestami, např. otevřenou ranou (tzv. chemické mixty) či pomocí injekčního vpichu do různých částí organismu. Tohoto způsobu expozice se využívá zejména v experimentální toxikologii při práci s laboratorními zvířaty, kdy látka může být aplikována např. do svalu (intramuskulárně, i.m.), do žíly (intravenózně, i.v.), pod kůži (subkutánně, s.c.), do mozku (intracerebrálně) apod.. Toxický účinek chemické látky je místem expozice ovlivněn ve smyslu rychlosti nástupu toxického účinku a velikosti LD<sub>50</sub>. Významným faktorem ovlivňujícím toxický účinek látky je také **trvání expozice**. Rozeznáváme **akutní jednorázovou expozici** kdy látka pronikne do organismu pouze jednou např. při injekci nebo je inhalována maximálně po dobu 4 hodin nebo je s ní organismus v jiném kontaktu (např. přes kůži) maximálně pod dobu 24 hodin. **Opakovaná expozice** je opakované působení chemické látky po dobu 4 týdnů (**subakutní toxicita**), po dobu 1 až tří měsíců (**subchronická toxicita**) nebo déle než 3 měsíce (**chronická toxicita**). Při opakované expozici je také důležitá **frekvence expozice**, tedy v jakých časových intervalech expozice probíhá a jaká je délka jednotlivých intervalů - délky působení chemické látky a délky přestávek. Frekvence expozice ovlivňuje toxicitu látky v závislosti na jejím osudu v organismu. Při dostatečně dlouhých intervalech může díky metabolizaci látky na netoxické produkty nebo díky vylučování látky (**exkreci**) dojít k tomu, že každá další expozice probíhá pod obrazem akutní jednorázové expozice. Podobně je tomu tak i v případech, kdy dochází k obnovení (**reparaci**) narušených biochemických pochodů, biologických struktur a tkání. Naopak při krátkých intervalech může absorpce látky být vyšší než rychlost její biotransformace a exkrece a docházet tak k hromadění (**kumulaci**) látky v organismu. Kumulace vede k postupnému zvyšování koncentrace chemické látky v některých orgánech (**místo kumulace**), což může vést k jejich nevratnému (ireversibilnímu) poškození.

### **Selektivní a orgánová toxicita**

Některé látky jsou schopny působit toxicky pouze na některé biologické druhy, zatímco pro jiné druhy jsou v přibližně stejných dávkách nebo koncentracích neškodné.

Takové vlastnosti chemických látek říkáme **selektivní toxicita**. Tato vlastnost je projevem rozdílné citlivosti různých biologických druhů k chemické látce a lze ji využít v případech, že potřebujeme cíleně zasáhnout pouze proti určitému biologickému druhu, např. plevelům, aniž bychom ohrozili jiné druhy žijící v jejich blízkosti, tj. kulturní rostliny. Jiným příkladem mohou být insekticidní organofosfáty, které vykazují vysokou toxicitu pro hmyz, ale jen nízkou toxicitu pro teplokrevné živočichy včetně člověka, což znamená, že práce s nimi představuje pro člověka jen malé zdravotní riziko. Selektivní toxicita by mohla vést k chybným závěrům o toxicitě chemické látky, pokud by byla testována jen na jednom biologickém druhu. Proto platí zásada, že testování je nutno vždy provádět na více biologických druzích. V případě testování toxicity látek, u nichž se předpokládá aplikace člověku, např. léčiva, je nutno volit nejméně dva druhy laboratorních zvířat, z nichž jedno nesmí být hlodavec. Např. laboratorní potkan je rezistentní k teratogennímu účinku thalidomidu, zatímco pes nebo kočka jsou vůči této látce citlivé. Ale i mezi hlodavci existují rozdíly. Např. aflatoxin B<sub>1</sub> vyvolává u potkanů karcinom jater, zatímco myši jsou vůči karcinogennímu účinku tohoto mykotoxinu rezistentní.

Selektivní toxicita mezi vzdálenými biologickými druhy je podmíněna rozdílnou stavbou buněk a jejich rozdílným biochemismem (např. rozdíly mezi rostlinami a živočichy), u biologicky blízkých druhů je selektivní toxicita většinou podmíněna rozdílnou metabolizací chemické látky u různých biologických druhů.

Pokud chemická látka působí na některé orgány více toxicky než na jiné, mluvíme o **orgánové toxicitě**. Takovými citlivými orgány mohou být např. játra (hepatotoxicita), ledviny (nefrotoxicita), kardiovaskulární systém (kardiotoxicita), nervový systém (neurotoxicita) apod. V některých případech nemusí být selektivita toxického účinku omezena na jediný orgán, ale může se projevit na dvou i více orgánech, které jsou někdy označovány jako tzv. **cílové orgány**. Jen zcela vyjíměčně mohou být poškozeny víceméně všechny orgány a pak mluvíme o tzv. **systémové toxicitě**. Často je však za systémovou toxicitu považovány případy, kdy cílovým orgánem je centrální nervový systém (CNS). Pokud se projevují toxické příznaky pouze v místě prvního kontaktu toxické látky s biologickým objektem. Mluvíme o **lokální toxicitě**. Původně lokální toxicita se však může v průběhu trvání intoxikace změnit na toxicitu orgánovou či systémovou. Tak je tomu např. u zpuchýřujících látek jako jsou yperity, kdy lokální toxické změny na kůži (nejprve zarudnutí, pak puchýře) se postupně mění až na systémové příznaky intoxikace.

Zvláštní odpovědí organismu na působení chemické látky je tzv. **chemická alergie**. Jejím fyziologickým podkladem je imunologicky zprostředkovaná tvorba protilátek po předchozím kontaktu organismu s chemickou látkou. Alergická reakce se rozvine po opětovném kontaktu organismu s toutéž látkou (vyjíměčně i podobnou, která vyvolává stejnou imunologickou odpověď) a to i ve velmi malých dávkách, protože interakce antigen - protilátka je neobyčejně citlivá. Chemická alergie se může projevit změnami na kůži (kopřivka, vyrážka), očích (zánět spojivek), vnitřních orgánech a může končit tzv. anafylaktickým šokem. Abnormální reakcí na chemickou látku jsou také tzv. **idiosynkratické reakce**. Ty jsou výsledkem určité genetické abnormality, která má za následek, že organismus se stává vůči určité chemické látce mimořádně citlivý nebo

naopak mimořádně necitlivý. Např. u lidí s geneticky podmíněnou abnormalitou výskytu atypické butyrylcholinesterasy v krevní plasmě, dojde po podání myorelaxancia succinylcholinu k nebezpečně dlouhotrvající svalové relaxaci, která může ohrozit život člověka. Důvodem je skutečnost, že atypická butyrylcholinesterasa má jen velmi nízkou schopnost hydrolyzovat a tím rušit farmakologický účinek succinylcholinu.

U většiny chemických látek se jejich toxický účinek na biologický objekt projeví již v krátké době expozici nebo po krátké době **latence**. Existují však výjimky, kdy mezi expozicí a objevením se prvních příznaků intoxikace je doba latence relativně dlouhá nebo je k vyvolání toxického účinku potřebné aby došlo k opakované expozici. Takový druh toxické reakce označujeme jako **opožděnou toxicitu**. Takový druh toxicity vykazují např. některé triarylfosfáty, které vyvolávají tzv. opožděnou neurotoxicitu až několik let po expozici nebo některé karcinogenní látky, u nich může být doba latence až několik desítek let.

Zatím jsme toxický účinek chemických látek chápali tak, že na biologický objekt působí vždy jen jedna jediná látka. To však je pouze jedna z možností. Lze si velmi dobře představit, a v praxi k takovým situacím dochází, že na organismus působí současně dvě i více chemických látek. Co můžeme v takovýchto případech očekávat? V podstatě existují tři možnosti, kterými bude organismus na takovou situaci reagovat:

i. Obě chemické látky budou v organismu působit, aniž by navzájem mezi sebou interagovaly a navzájem ovlivňovaly svou toxicitu. V takovém případě bude výsledný toxický účinek sumací toxických účinků obou látek.

ii. Toxický účinek obou látek se bude potencovat, tzn. že jedna látka bude zvyšovat citlivost biologického objektu k druhé látce. V důsledku této potenciace bude výsledný toxický účinek větší než součet toxických účinků jednotlivých chemických látek.

iii. Mezi oběma chemickými látkami může dojít k antagonistickému účinku, kdy podání jedné látky vyvolá snížení citlivosti biologického objektu k druhé látce. V takovém případě je výsledný toxický účinek menší, než by odpovídalo součtu toxických účinků jednotlivých látek.

#### Kontrolní otázky

1. Vysvětlete jaké obecné vztahy existují mezi chemickou strukturou látky a jejím toxickým účinkem.
2. Popište závislost biologické odpovědi (toxicity) na dávce toxické látky a vysvětlete, co rozumíme pod pojmem toxicitní parametry chemické látky.
3. Které faktory mají vliv na toxické účinky chemické látky?
4. Co je selektivní a orgánová toxicita?

5. Jaké mohou existovat toxicitní vztahy při expozici biologických objektů dvěma a více chemickými látkami současně?