



PEDAGOGICKÁ FAKULTA
Masarykovy univerzity

PŘEDMĚT: TOXIKOLOGIE

TESTOVÁNÍ TOXICITY

Brno, 4. 11. 2020

Hodnocení toxických účinků:

- predikční toxikologie
- experimentální toxikologie
- 10^7 chemických sloučenin (ročně několik stovek přibývá)
- u nových derivátů nejasný toxický účinek
- nutné před použitím v průmyslu získat
- časově i finančně náročný postup, dlouhodobý přínos je nedocenitelný
- Získ informací
 - z chemických provozů (pracovní lékařství, klinická toxikologie)
 - při chemických nehodách
 - katastrofách
 - epidemiích

- Jde o novou látku?
- Jaká toxikologická data jsou o ní k dispozici?
- Půjde o jednorázovou, opakovanou nebo dlouhodobou expozici?
- Jakým dávkám mohou být lidé exponováni?
- Dojde k vypouštění do životního prostředí?
- Bude se látka přidávat do lidské potravy?
- Je pravděpodobná expozice dětí a těhotných žen?

Dle provedení:

- ***In vivo (v živém prostředí)***
- ***In vitro (v lab. podmínkách)***
- ***In silico (počítačová simulace)***

Testy dle druhu účinku:

- karcinogenity**
- mutagenity**
- teratogenity**
- reprodukční toxicity**

Dle délky expozice:

- ❖ **akutní toxicita**
- ❖ **subakutní toxicita**
- ❖ **chronická toxicita**

Následné studie:

- **klinické studie**
- **epidemiologické studie**
- **biologické expoziční testy**

- testy na zvířatech
- mezidruhové rozdíly velké, problematicky interpretovatelné

Nejčastější pokusná laboratorní zvířata :

- potkan
- myš
- králík (oční testy, dermální testy)
- morče (alergizace)
- křeček (karcinogenita)
- prase – speciální malý typ (metabolicky nejbliž člověku)
- pes, kočka, opice (v menší míře)

Identické podmínky:

- jedinci stejného stáří
- zastoupení pohlaví 1:1
- kontrolní skupina
- stejné životní podmínky

Kontroly a řízení pokusů (QA/QC Quality Assessment/Quality control)

Správné laboratorní praxe (GLP – Good Laboratory Practise).

Nejčastější toxické indexy toxicity:

- **LD50 a LD100 (LC50 a LC100)** –vyjadřují letální dávku (LD – lethal dose) nebo koncentraci (LC – lethal concentration), při níž zahyne 50 nebo 100 % jedinců v testovaném souboru
- **NOEL** (no observed effect level) – koncentrace, při níž nejsou pozorovatelné žádné účinky látky (práh)
- **NOAEL** (no observed adverse effect level) - nejvyšší úroveň expozice, při které není pozorována žádná nepříznivá odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou, jsou porovnávány účinky, které nejsou považovány za nežádoucí ani za prekurzory nežádoucích účinků
- **LOEL** (lowest observed effect level) - nejnižší úroveň expozice, při které je ještě pozorována statisticky významná odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou
- **LOAEL** (lowest observed adverse effect level) - nejnižší úroveň expozice, při které je ještě pozorována nepříznivá odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou

Testy akutní toxicity

- účinky v krátkém čase (pozorování 14 dnů)
- po jednorázovém podání
- skupiny 6 – 10 jedinců + kontrolní skupina
- výsledný index toxicity MUSÍ obsahovat údaj o způsobu podání, délce expozice, testovaném jedinců
- mortalita LD_{50} nebo LC_{50} a závislost účinku na dávce
- úvodní studie pro další toxikologické testy

Akutní orální toxicita

- 2 druhy zvířat (hlodavec, nehlodavec), obojí pohlaví
- skupina zvířat (nejméně 5, optimálně 10)
- sledují se po dobu 14 dnů od jednorázové aplikace (tělesná hmotnost)
- aplikace 3–6 rostoucích dávek (mg/kg) 3–6 skupinám zvířat
- uhynulá i zvířata která přežila jsou na konci testu pitvána (histologické vyšetření orgánů a tkání)

Akutní dermální toxicita

- škodlivý účinek projevující se při krátkodobé dermální aplikaci (mg/kg)
- experimentální zvířata – králík, morče, potkan

Akutní inhalační toxicita

- aplikace plyných látek nepřerušeně po krátkou časovou periodu inhalační cestou
- LC50 se vyjadřuje jako hmotnost zkoušené látky na standardní objem vzduchu (mg/l nebo ppm)

Akutní dermální dráždivost (poleptání)

- při vzniku reverzibilních zánětlivých změn na pokožce
- králík, morče (zdraví, obě pohlaví)
- na depilovanou pokožku (plocha 2,5 x 2,5 cm, doba cca 4 hodiny)
- hodnocení vizuální 0,5; 1; 4; 24 hodin po skončení expozice
- hodnotí se edém (otok) a erytém (zarudnutí)

Akutní podráždění oka

- změna reverzibilní (akutní poleptání – ireverzibilní)
- albinotický králík
- aplikace 0,1 ml do spojivkového vaku do jednoho oka (druhé kontrola)
- vyhodnocení po 24 hodinách
- hodnotí se změny: poškození rohovky, reakce duhovky na světlo, zánět, otok a zčervenání spojivky, slzivost

Testy subakutní toxicity

- délka testu 28 – 90 dní
 - přísně homogenní testovaná + kontrolní skupina (stejný věk, pohlaví, hmotnost)
 - každodenní jednorázová expozice dané látce
 - v průběhu testu pozorování biochemických reakcí (rozbor moči)
 - po skončení testu usmrcení a hodnocení toxicity na jednotlivé orgány
 - důležité pro stanovování NOAEL a LOAEL a pro plánování chronických testů
 - podání látky po dobu kratší než 10 % délky života
-
- **subakutní orální toxicita**
 - **subakutní dermální toxicita**
 - **subakutní inhalační toxicita**

Testy chronické toxicity

- dlouhodobý test opakovaných expozic, u potkana 2 roky životnost
- zkoumají se biochemické parametry a příčina smrti
- důležité pro stanovení NOAEL a LOAEL a popis dlouhodobého účinku

- sledování pozdních účinků (karcinogenních)
- sledování patologických změn (úbytek hmotnosti, biochemické parametry)
- kontrolní skupina (neexponovaná sledované látce) musí být stejně početná a držena za stejných podmínek
- po skončení experimentu – utracení zvířat, pitva

Testy chronické toxicity

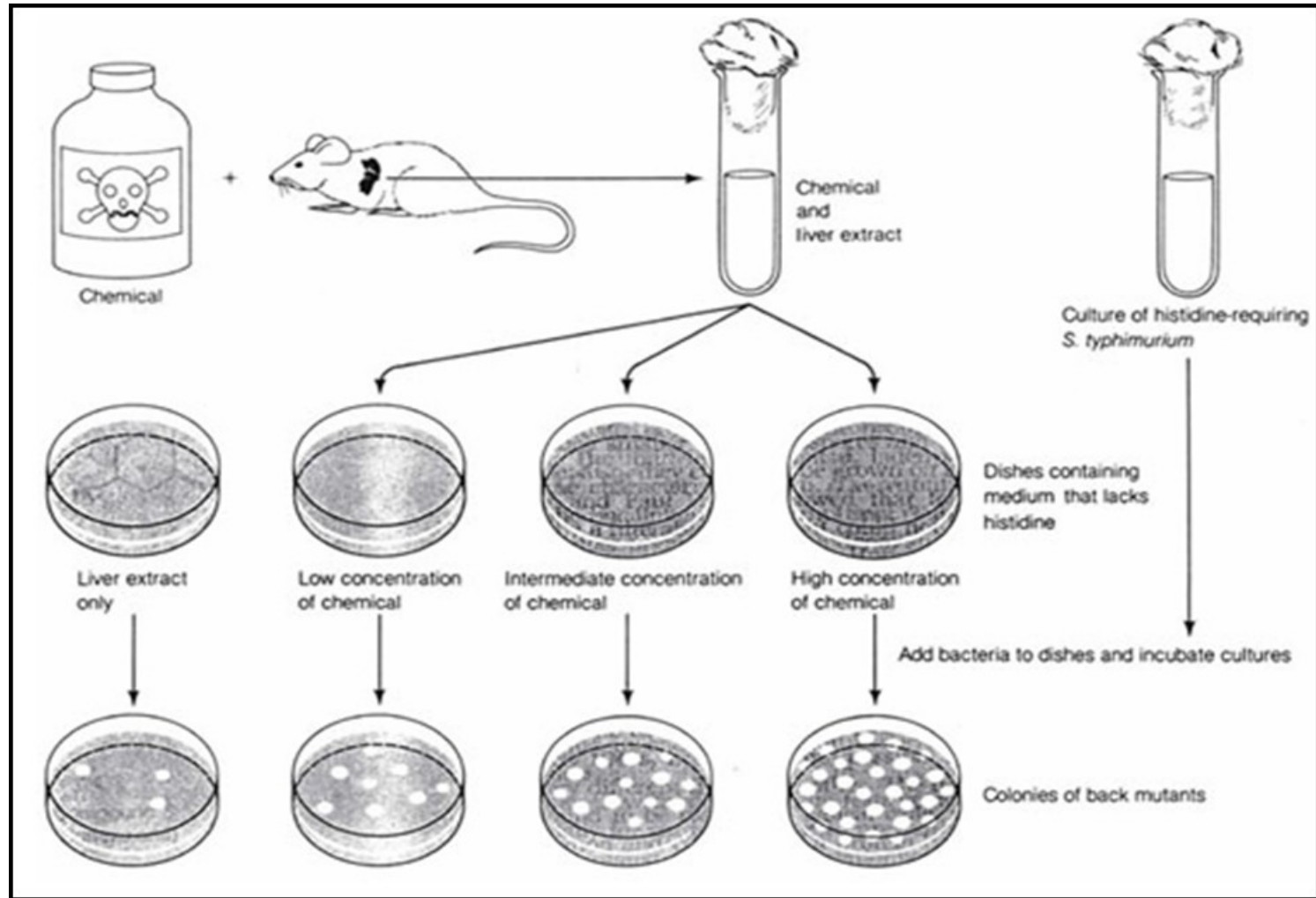
výsledky mají sloužit pro základní toxikologický výzkum

- studium biochemických procesů
- mechanismus účinku
- molekulárně genetické experimenty.

Testování organismy a části:

- **jednoduché organismy** – bičíkovci, prvoci, bakterie, sinice, červi
 - **buněčné preparáty** – bílé krvinky, jaterní buňky, nádorové buňky
- rutinní testy akutní toxicity na nitěnkách *Tubifex tubifex*
- testy mutagenity na bakteriích *Salmonella typhimurium* – Amesův test

In vitro – Amesuv test



Predikční metody

- předpověď velikosti účinku látek na základě zvolených parametrů struktury

Vztahy mezi strukturou a biologickou aktivitou

- kvalitativní (mutagenita, karcinogenita atd.)
- kvantitativní

QSAR (quantitative structure-activity relationship)

- popis vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou
- v sériích strukturně podobných látek
- i prostorové interakce s receptory
- bývají někdy nespolehlivé

Děkuji za pozornost

prof. Ing. Dušan Vičar, CSc.

Katedra fyziky, chemie a odborného vzdělávání