

OSNOVE SPLOŠNE FARMAKOLOGIJE IN TOKSIKOLOGIJE

Katarina Černe, Ilonka Ferjan, Mojca Kržan, Metoda
Lipnik-Štangelj, Lovro Stanovnik in Lovro Žiberna

Univerza v Ljubljani

Medicinska fakulteta

Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo

Ljubljana 2015

Kolofon

- **Naslov, podnaslov:** Osnove splošne farmakologije, Učbenik za študente splošne medicine, dentalne medicine in farmacije.
- **Avtorji:** doc. dr. Katarina Černe, asist. dr. Ilonka Ferjan, prof. dr. Mojca Kržan, prof. dr. Metoda Lipnik – Štangelj, izr. prof. dr. Lovro Stanovnik, doc. dr. Lovro Žiberna
- **Recenzenta:** doc. dr. Sergej Pirkmajer, doc. dr. Miran Brvar
- **Ilustrator:** Matic Kržan
- **Fotograf:** Bogdan Martinčič
- **Podatki o izdaji ali natisu:** 1. izdaja
- **Založnik:** Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenija.
- **Kraj izida:** Ljubljana
- **Leto izida:** 2015
- **Naklada** (podatek o številu natisnjenih izvodov): elektronski vir
 - publikacija bo elektronska v formatu PDF. Nahajala se bo na naslovu: <http://www.mf.uni-lj.si/ifet/studijsko-gradivo>
 - **Enotna maloprodajna cena publikacije: brezplačen dostop**

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

615(075.8)

OSNOVE splošne farmakologije in toksikologije / Katarina Černe ...
[et al.] ; [ilustrator Matic Kržan ; fotograf Bogdan Martinčič]. - 1. izd. -
Ljubljana : Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo,
2015

ISBN 978-961-90433-4-9

1. Černe, Katarina
281424384

PREDGOVOR

Farmakologija je zelo zanimiva veda, s katero se večina zdravnikov, zobozdravnikov in farmacevtov vsakodnevno ukvarja, študentje pa jo imajo bistveno manj radi. Farmakologija zahteva drugačen način študija, znanje se le počasi kopiči, povezave med naučenimi dejstvi pa se vzpostavijo še z dodatnim časovnim zamikom. In šele tedaj nekoč neizgovorljiva imena zdravil postanejo smiselna in odvrtno debel učbenik farmakologije ni več katalog ali telefonski imenik.

Ne glede na spremembe učnih načrtov, v katerih je včasih več včasih manj ur farmakologije, te-ta vedno predstavlja most med predkliniko in kliniko in uvod v terapijo. Za razumevanje delovanja zdravil ne smeš pozabiti biokemije, fiziologije, pri predpisovanju zdravil je poleg kliničnih predmetov nujno poznavanje patologije, patološke fiziologije in mikrobiologije. Uporabnosti farmakološkega znanja se navadno zave šele mladi zdravnik, zobozdravnik in farmacevt, ko je prepuščen samostojnemu stiku s čedalje bolj zahtevnim in farmakološko osveščenim bolnikom.

Učbeniki farmakologije v slovenskem prostoru so redki. Po pionirju slovenske farmakologije profesorju Petru Lenčetu, ki je napisal Farmakologijo za medicinske sestre 1956, Farmakologijo za I. fazo študija stomatologije (1962), Kratek pregled farmakologije (1967 in 1967), s(m)o sodelavci Inštituta za farmakologijo izdajali le naš najprepoznavnejši učbenik Navodila za predpisovanja zdravil. Prva Navodila je napisala Metka V. Budihna (1981, 1983). V izdajah iz leta 1990 in 1993 se je učbenik nekoliko razširil in preimoval v Navodila za pisanje receptov. Učbenik so napisali Metka Budihna, Lovro Stanovnik in Ladko Korošec. Leta 2008 so Metoda Lipnik-Štangelj, Silvije Černelč, Ladko Korošec in Lovro Stanovnik napisali Recepturo.

V letu 1999 so izšla Izbrana poglavja iz farmakologije – Priprava za praktično delo študentov. Avtorji so bili Tatjana Irman Florjanc, Ladko Korošec in Lovro Stanovnik. To so bila s teoretičnimi osnovami podprta navodila za praktične vaje, ki so takrat potekale na Inštitutu za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo v okviru študija farmakologije za študente medicine, stomatologije in farmacije.

S tem učbenikom, ki je teoretično precej razširjen in prilagojen novemu programu in poteku pouka, želimo študentom splošne medicine, dentalne medicine in farmacije olajšati prvi stik s farmakologijo, jim prebuditi farmakološko radovednost in olajšati »kronični« stik s farmakologijo. Tudi maraton se vedno začne s prvim korakom.

Učbenik je namenjen študentom splošne medicine, dentalne medicine in farmacije za boljšo pripravo na vaje iz splošne farmakologije in toksikologije. V poglavje Toksikologija pa so vključene tudi vsebine, ki manjkajo v ostali predpisani literaturi za predmet.

VSEBINA

1. Osnove farmakodinamike.....	5
2. Osnove farmakokinetike.....	19
3. Osnove toksikologije.....	44
4. Delovanje zdravil na osrednje živčevje.....	66
5. Poskus na živalih – primeri preizkušanja zdravil z delovanjem na osrednje živčevje.....	76

1. OSNOVE FARMAKODINAMIKE

Lovro Stanovnik in Ilonka Ferjan

Velika večina zdravil deluje tako, da se veže na sestavine organizma. Mesta vezave zdravil imenujemo *receptorji za zdravila* v najširšem pomenu besede. Lahko so zunaj celic, večinoma pa gre pri receptorjih za celične sestavine. Da zdravilo povzroči terapevtski učinek mora v večini primerov delovati specifično. To pomeni, da se molekula zdravila veže le na določeno celično sestavino in posamezna celična sestavina prepozna samo določeno vrsto zdravila.

Glede na njihovo funkcijo je celičnih receptorjev za zdravila več vrst:

- receptorji za endogene prenašalce (mediatorje) - to so receptorji v ožjem pomenu besede, pogosto jih imenujemo tudi *farmakološki receptorji*. Največkrat so v celični membrani, lahko pa so tudi v citoplazmi ali v jedru.
- ionski kanali; ti lahko nastopajo kot samostojni receptorji, lahko so del farmakološkega receptorja ali pa so funkcionalno sklopljeni z njim.
- transporterji, namenjeni prenašanju molekul skozi celične membrane,
- encimi, ki so velikokrat neposredna tarča delovanja zdravil.

RECEPTORJI ZA ENDOGENE PRENAŠALCE (FARMAKOLOŠKI RECEPTORJI)

Farmakološki receptor je proteinska molekula, ki prepozna endogeni kemijski dražljaj in nanj odgovori. Ta vrsta receptorjev je najpogosteje povezana z učinkom zdravil, bodisi da ta delujejo na receptorje neposredno ali pa spremenijo njihovo delovanje na posreden način. S temi receptorji se ukvarja veliko farmakoloških raziskav. Odkrivajo vedno nove podtipе, njihovo strukturo in delovanje. To pa odpira pot v sintezo novih in vse bolj selektivnih zdravil.

AGONISTI IN ANTAGONISTI

Pri zdravilih, ki delujejo neposredno na receptorje, ločimo dve kategoriji: agoniste in antagoniste. Zdravila, ki ob vezavi na receptor tega aktivirajo in izzovejo učinek, tako kot endogeni mediator, so **agonisti**.

Druga zdravila se vežejo na receptor, sama ob tem ne izzovejo učinka, pač pa preprečujejo vezavo agonistom; to so **antagonisti**. Antagonisti se lahko vežejo na isto mesto na receptorju kot agonisti in z njim tekmujejo za vezavo, govorimo o *kompetitivnem antagonizmu*. Če je ta

vezava reverzibilna, je to *reverzibilni kompetitivni antagonizem*, če je ireverzibilna, pa imamo opraviti z *ireverzibilnim kompetitivnim antagonizmom*. Vezava antagonist na receptor je reverzibilna, kadar lahko agonist izpodrine agonista z receptorja. (primer: propranolol je kompetitivni antagonist na adrenergičnih receptorjih β .) Pri ireverzibilni vezavi pa nastane med antagonistom in receptorjem močna kovalentna vez. Agonist v tem primeru ne more izpodriniti antagonist z receptorja. Čas delovanja ireverzibilnega antagonist je odvisen od sinteze novih receptorskih molekul.

Antagonist se lahko veže na receptorju tudi na drugo mesto kot agonist in s tem spremeni konformacijo receptorja tako, da se spremenijo lastnosti receptorja in s tem tudi delovanje agonista; lahko se veže na katero od komponent, ki povezujejo aktivacijo receptorja z učinkom, in tako zmanjša delovanje agonista; v takih primerih gre za *nekompetitivni antagonizem*, ki je glede na vrsto vezave antagonist spet lahko reverzibilen ali ireverzibilen.

Doslej omenjenim vrstam antagonizma, ko se antagonist veže na isti receptorski sistem kot agonist, pravimo **farmakološki antagonizem**. Poznamo pa še druge vrste antagonizma, kjer gre za le to, da eno zdravilo zmanjša učinek drugemu, ne glede na mehanizem. Sem sodijo:

- **kemični antagonizem**, kjer gre za kemično interakcijo med antagonistom in agonistom, še preden se ta veže na receptor (primer: tvorba kelatov med kelirajočim reagentom in težkimi kovinami)

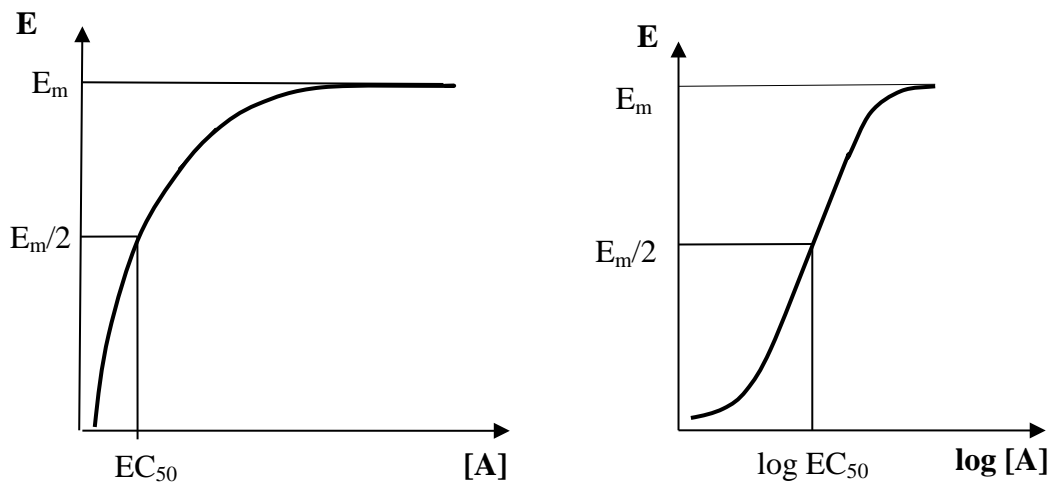
- **fiziološki antagonizem**, pri katerem agonist in antagonist delujeta na različna prijemališča, celo v različnih organih, ter povzročita učinke, ki si nasprotujejo (primer: histamin z vezavo na histaminske receptorje zveča izločanje želodčne kisline, inhibitor protonske črpalke pa z zaviranjem delovanja protonske črpalke izločanje želodčne kisline zavre)

- **farmakokinetični antagonizem**, kjer antagonist zaradi interakcij z agonistom na enem ali več farmakokinetičnih nivojih (absorpcija, porazdelitev, metabolizem, izločanje) zmanjša koncentracijo agonista na mestu delovanja (primer: indukcija metabolnih encimov z barbituratom pospeši metabolizem antikoagulant in tako zmanjša njegov učinek).

PRIKAZOVANJE IN MATEMATIČNI OPIS ODNOSA MED KONCENTRACIJO AGONISTA IN UČINKOM

Iz analize odnosa med koncentracijo agonista in njegovim učinkom je mogoče sklepati na lastnosti agonista in receptorja, na katerega se veže. Pri raziskavah delovanja agonistov in antagonistov na receptorje navadno uporabljamo **izolirane organe ali tkiva**.

Učinek agonista z naraščanjem koncentracije raste do določene maksimalne vrednosti; funkcija, ki ta odnos najbolje opisuje, je pravokotna hiperbola. Grafično je odnos med koncentracijo agonista in njegovim učinkom prikazan na sliki 1. Za prikazovanje tega odnosa je na abscisni osi (koncentracija agonista) navadno logaritemska skala, ker se tako osrednji del krivulje lahko obravnava kot premica in je s tem olajšana primerjava učinkov različnih agonistov. Parametri, ki določajo funkcijo odnosa med koncentracijo agonista in učinkom, so naslednji: maksimalni učinek - E_m in koncentracija agonista, ki izzove polovico maksimalnega učinka - EC_{50} (- efektivna koncentracija, ki izzove **50%** maksimalnega učinka). Ker se ta parameter uporablja tudi pri poskusih na celi živali, tam pa uporabljamo doze in ne koncentracij, se včasih uporablja tudi oznaka ED_{50} , tudi pri poskusih na izoliranih organih, ko gre dejansko za koncentracijo. Navadno uporabljamo molarne koncentracije agonistov in antagonistov.



Slika 1.1 : Grafični prikaz odnosa med koncentracijo agonista in njegovim učinkom. Na levem grafu je na abscisni osi linearna skala, na desnem logaritemska. E_m - maksimalni učinek, $[A]$ - koncentracija agonista, EC_{50} - koncentracija agonista, ki izzove učinek, enak polovici maksimalnega učinka.

Funkcija, ki povezuje koncentracijo agonista $[A]$ z njegovim učinkom E je naslednja:

$$E = \frac{E_m \cdot [A]}{EC_{50} + [A]} \quad (\text{Enačba 1.1})$$

Če uvedemo v enačbo 1.1 še parameter p , ki določa naklon krivulje, prikazane v desnem grafu slike 1 (v enačbi 1.1 ima vrednost 1), dobimo naslednji odnos, ki je posebna oblika t.i.

logistične funkcije:

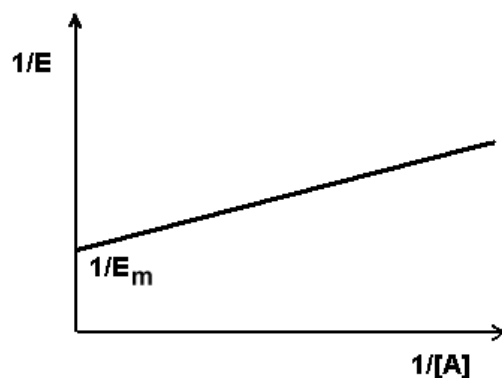
$$E = \frac{E_m \cdot [A]^p}{EC_{50}^p + [A]^p} \quad (\text{Enačba 1.2})$$

Če je $p < 1$, je krivulja, ki jo opisuje enačba 1.2, bolj položna, če je $p > 1$, je krivulja bolj strma.

S pomočjo teh enačb lahko določimo za agoniste maksimalni učinek in EC_{50} , Enačbo 1.1 lahko pretvorimo tudi v linearno obliko, podobno enačbi po *Lineweaver-Burku*, ki jo poznamo iz encimske kinetike:

$$\frac{1}{E} = \frac{1}{[A]} \cdot \frac{EC_{50}}{E_m} + \frac{1}{E_m} \quad (\text{Enačba 1.3})$$

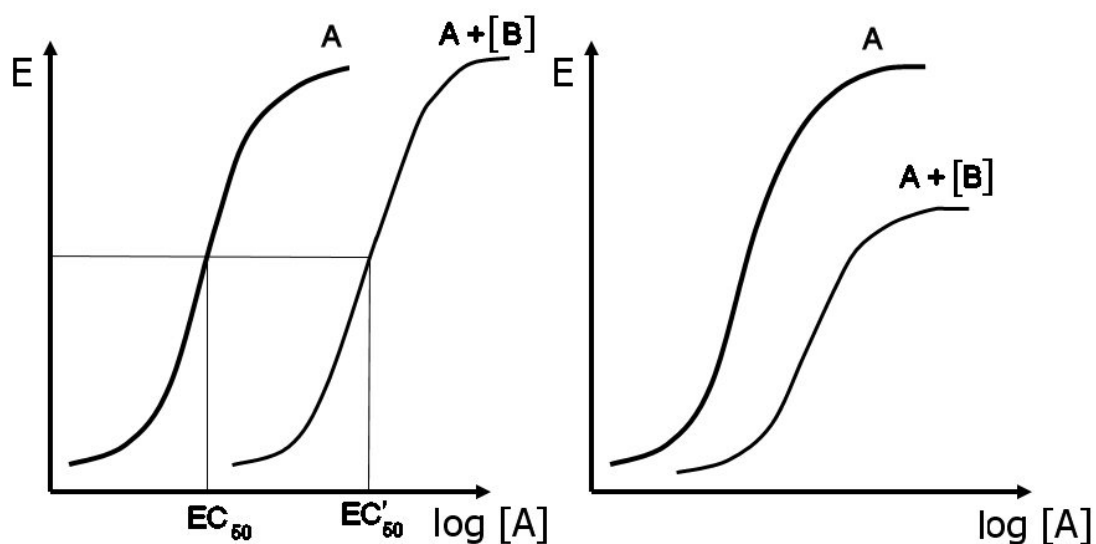
Pri grafičnem prikazovanju enačbe 1.3 je odvisna spremenljivka (na osi y) na levi strani enačaja, neodvisna spremenljivka (na osi x) pa je $\frac{1}{[A]}$. S pomočjo linearne transformacije lažje določimo E_m in ED_{50} kot iz enačb 1.1 ali 1.2, kar pa ob splošni dostopnosti računalniških programov za prilagajanje izbrane funkcije eksperimentalnim podatkom (curve fitting) ne predstavlja posebne prednosti. Pri enačbi 1.3 je presečišče premice z ordinatno (y) osjo enako recipročni vrednosti maksimalnega učinka. Graf na sliki 1.2 prikazuje odnos med koncentracijo in učinkom, kot ga opisuje enačba 1.3.



Slika 1.2: Grafični prikaz odnosa med koncentracijo agonista in njegovim učinkom, pri katerem na abscisno os nanašamo recipročno vrednost koncentracije agonista ($1/[A]$), na ordinatno pa recipročno vrednost učinka ($1/E$). Presečišče premice z ordinatno osjo nam kaže recipročno vrednost maksimalnega učinka ($1/E_m$), naklon premice je določen z razmerjem EC_{50}/E_m .

Agonisti se lahko med sabo razlikujejo v E_m in EC_{50} . Za zdravilo z večjim E_m pravimo, da je bolj *učinkovito*, za zdravilo z manjšim EC_{50} pravimo, da je *močnejše*; govorimo torej o **učinkovitosti** zdravila, ki ga določa njegov maksimalni učinek, in o **moči** zdravila, ki je določena z EC_{50} . Namesto EC_{50} (ED_{50}) se pogosto uporablja pD_2 ($-\log ED_{50}$).

Ob prisotnosti antagonista se krivulja odnosa med koncentracijo in učinkom agonista spremeni, kot je prikazano na sliki 3: Pri reverzibilnem kompetitivnem antagonizmu se maksimalni učinek ne zmanjša, krivulja pa se pomakne v desno, v območje večjih koncentracij agonista; pri nekompetitivnem antagonizmu se maksimalni učinek zmanjša in krivulja se lahko pomakne v desno.



Slika 1.3: Grafični prikaz odnosa med koncentracijo agonista in njegovim učinkom ob prisotnosti reverzibilnega kompetitivnega antagonista (levi graf) in ob prisotnosti nekompetitivnega antagonista (desni graf). [A] – molarna koncentracija agonista, [B] – molarna koncentracija antagonista, EC_{50} – molarna koncentracija agonista, ki izzove učinek, enak polovici maksimalnega učinka, EC'_{50} – EC_{50} spremenjen zaradi delovanja antagonista.

Za določanje moči antagonistov se uporablja vrednost pA_2 , ki je negativni desetiški logaritem tiste koncentracije antagonista, ki učinek dvojne koncentracije agonista zniža na učinek enojne

(definicija po *Schildu*). Vrednost pA_2 je pri reverzibilnih kompetitivnih antagonistih enaka disociacijski konstanti kompleksa antagonist-receptor. S pomočjo določanja vrednosti pA_2 za iste pare agonist-antagonist na različnih tkivih je mogoče določiti različne podtipе receptorjev.

TEORIJE RECEPTORJEV

Povezavo med aktivacijo receptorjev in učinkom agonista opisujejo teorije receptorjev; te izhajajo iz različnih predpostavk in skušajo pojasniti eksperimentalno ugotovljene značilnosti učinka zdravil.

Še najmanj tvegana je predpostavka, da se agonist veže na receptor po zakonu o delovanju mas. Ob reverzibilni reakciji agonista A z receptorjem R nastane kompleks AR, ki nato preko vmesnih stopenj privede do učinka E.

Hitrost reakcije v smeri nastajanja kompleksa (v_1) je:

$$v = k_1 \cdot [A] \cdot [R_p] \quad (\text{Enačba 1.4})$$

pri čemer je k_1 hitrostna konstanta v smeri nastajanja kompleksa, $[A]$ molarna koncentracija agonista in $[R_p]$ molarna koncentracija prostih receptorjev.

Hitrost reakcije v nasprotni smeri (v_2) pa je:

$$v_2 = k_2 \cdot [AR] \quad (\text{Enačba 1.5})$$

pri čemer je k_2 hitrostna konstanta v smeri disociacije kompleksa in $[AR]$ molarna koncentracija zasedenih receptorjev.

V ravnotežju velja:

$$v_1 = v_2$$

in

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{[A][R_p]}{[AR]} = K_D \quad (\text{Enačba 1.6})$$

K_D je ravnotežna disociacijska konstanta kompleksa agonist-receptor.

Teorije, ki poskušajo pojasniti in kvantitativno ovrednotiti interakcijo med agonistom in receptorjem, se že v tej fazi med seboj razhajajo.

Hitrostna teorija, uvedel jo je Paton, izhaja iz predpostavke, da je učinek agonista odvisen od *hitrosti nastajanja* kompleksa agonist-receptor. S to teorijo je mogoče razložiti nekatere eksperimentalne podatke; npr. pogosto opazimo, da takoj po dodatku agonista nastopi hiter in močan učinek, ki dokaj hitro upade do neke ravnotežne vrednosti, podobno kot se spreminja hitrost nastajanja kompleksov.

Druge teorije predpostavljajo, da je za učinek agonista odločilna koncentracija kompleksa agonist-receptor, oziroma *delež z agonistom zasedenih receptorjev*. To so **okupacijske teorije**.

Povezavo med koncentracijo agonista in koncentracijo kompleksa agonist-receptor lahko ob upoštevanju nekaterih predpostavk izvedemo iz enačbe 1.6:

$$[AR] = \frac{[R_t] \cdot [A]}{K_D + [A]} \quad (\text{Enačba 1.7})$$

$[R_t]$ je koncentracija vseh receptorjev: $[R_t] = [AR] + [R_p]$.

Najbolj preprosta je klasična okupacijska teorija, t.i. Ariënsova teorija, ki temelji na predpostavki, da gre med koncentracijo kompleksa in učinkom za premo sorazmeren odnos, sorazmernostni faktor je t.i. intrinzična aktivnost zdravila (α):

$$E = \alpha \cdot [AR] \quad (\text{Enačba 1.8})$$

maksimalni učinek je dosežen, ko so zasedeni vsi receptorji:

$$E_m = \alpha \times [R_t] \quad (\text{Enačba 1.9})$$

Intrinzična aktivnost je mera za sposobnost agonista, da izzove učinek, in ima lahko vrednosti od 0 do 1. Vrednost 1 imajo polni agonisti, vrednost 0 antagonist, vmesne vrednosti pa t.i. delni agonisti. Njihov maksimalni učinek je manjši od maksimalnega učinka polnih agonistov in lahko delujejo tudi kot antagonist. Precej zdravil kaže lastnosti delnih agonistov.

Z združitvijo enačb 1.7, 1.8 in 1.9 dobimo:

$$E = \frac{E_m \cdot [A]}{K_D + [A]} \quad (\text{Enačba 1.10})$$

Če enačbo (1.10) primerjamo z enačbo (1.1), vidimo, da EC_{50} ustreza K_D ; po klasični okupacijski teoriji je torej disociacijsko konstanto kompleksa agonist-receptor, K_D , mogoče določiti neposredno iz funkcije odnosa med koncentracijo agonista in učinkom.

Predpostavke tega pristopa pa ne držijo v vseh primerih. Pri poskusih z ireverzibilnimi antagonistami se je pokazalo, da pri nekaterih močnih agonistih za dosego maksimalnega učinka ni potrebna zasedenost vseh receptorjev. To je privedlo do t.i. **ničelnega pristopa** pri (okupacijskih) teorijah receptorjev, ki ga je uvedel Stephenson. V analizo odnosa med koncentracijo kompleksa AR in učinkom je uvedel nov pojem: *stimulus*, ki je premo sorazmeren koncentraciji kompleksa agonist-receptor. Sorazmernostni faktor je imenoval *učinkovitost* - *e* (efficacy). Funkcija, ki povezuje stimulus (*S*) s končnim učinkom agonista, **ni znana** (zato ničelni pristop) in je odvisna od tkiva, na katerem deluje agonist. Ti odnosi so ponazorjeni v naslednjih enačbah:

$$S = e \cdot [AR] \quad (\text{Enačba 1.11})$$

in

$$E = f(S) \quad (\text{Enačba 1.12})$$

Če združimo enačbe 1.7, 1.11 in 1.12, dobimo:

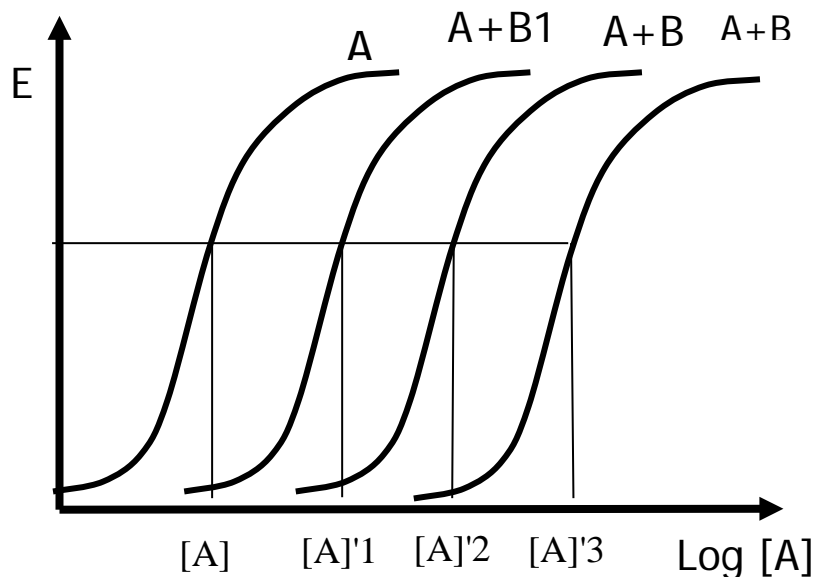
$$E = f \left(\frac{e \cdot [R_t] \cdot [A]}{K_D + [A]} \right) \quad (\text{Enačba 1.13})$$

Pri tem sta funkcija f in $[R_t]$ lastnosti tkiva (celice), učinkovitost e in K_D pa lastnosti agonista. Medtem ko je pri klasični okupacijski teoriji K_D mogoče določiti kar neposredno iz krivulje odnosa med koncentracijo in učinkom agonista (enak je ED_{50}), pa je pri Stephensonovi ničelni teoriji za to potreben še ireverzibilni antagonist in šele iz dveh krivulj (agonist sam in ob prisotnosti antagonist) lahko določimo disociacijsko konstanto kompleksa agonist-receptor, K_D .

Z napredovanjem molekularne farmakologije in z boljšim poznavanjem strukture in delovanja receptorjev je prišlo do razvoja **alosterične teorije**, ki temelji na **modelu dveh stanj** (two state model). Receptor naj bi obstajal v dveh oblikah, aktivni in neaktivni, ki lahko prehajata ena v drugo in sta njuni koncentraciji v ravnotežju. Ta teorija dopušča določeno aktivnost receptorskega sistema in s tem učinek tudi brez prisotnosti agonista. Vezava agonista, ta se veže predvsem na aktivno obliko, pomika ravnotežje na stran aktivne oblike in s tem povečuje učinek. Antagonist, ki se veže v enaki meri na obe obliki, ne spremeni osnovne aktivnosti receptorja, preprečuje pa vezavo agonistu. Zdravila, ki se z večjo afiniteto vežejo na neaktivno obliko receptorja, zmanjšujejo bazalno delovanje receptorja in se imenujejo **inverzni agonisti** ali **negativni antagonist**.

DOLOČANJE UČINKOVITOSTI KOMPETITIVNIH ANTAGONISTOV

Levi graf na sliki 1.3 lahko razširimo, tako da uporabimo več koncentracij kompetitivnega antagonist B (B_1 , B_2 in B_3), pri čemer je $B_1 < B_2 < B_3$. Večje koncentracije kompetitivnega antagonist pomaknejo krivuljo odnosa med koncentracijo agonista in učinkom bolj v desno (Slika 1.4).



Slika 1.4: Prikaz odnosa med koncentracijo agonista in učinkom, ko je agonist sam in ob prisotnosti rastočih koncentracij kompetitivnega antagonista B. [A]' so molarne koncentracije agonista ob prisotnosti ustreznih koncentracij antagonista, ki izzovejo enak učinek kot [A].

Kako lahko opišemo odnos med koncentracijo agonista in njegovim učinkom ob prisotnosti kompetitivnega antagonista? Ne glede na teorijo receptorjev lahko trdimo, da je ob enakih učinkih z agonistom zaseden enak delež receptorjev.

Iz enačbe 1.7 lahko izrazimo delež zasedenih receptorjev (y), ki ga opredelimo kot razmerje med koncentracijo kompleksa agonist-receptor (RA) in koncentracijo vseh receptorjev (R_t):

$$y = \frac{[A]}{[A] + K_A} \quad (\text{Enačba 1.14})$$

Ko je prisoten kompetitivni antagonist (B), je delež z agonistom zasedenih receptorjev (y') seveda manjši:

$$y' = \frac{[A]}{[A] + K_A (1 + [B] / K_B)} \quad (\text{Enačba 1.15})$$

pri tem je [B] molarna koncentracija antagonista, K_B pa disociacijska konstanta kompleksa antagonist receptor.

Ob enakih učinkih je delež zasedenih receptorjev enak:

$$\frac{[A]}{[A] + K_A} = \frac{[A]'}{[A]' + K_A (1 + [B] / K_B)} \quad (\text{Enačba 1.16})$$

Pri tem je [A] koncentracija agonista brez antagonista, [A]' pa koncentracija agonista, ko je prisoten antagonist.

Iz enačbe 1.16 lahko izvedemo naslednjo povezavo:

$$\frac{[A]'}{[A]} - 1 = \frac{[B]}{K_B} \quad (\text{Enačba 1.17})$$

Če razmerje koncentracij agonista ob prisotnosti antagonista in agonista brez antagonista (in ki izzoveta enak učinek) označimo z DR (dose ratio – razmerje doz oz. koncentracij), vstavimo to v enačbo 1.17 in jo logaritmiramo, dobimo iz enačbe 1.17 izraz:

$$\log (DR - 1) = \log [B] - \log K_B \quad (\text{Enačba 1.18})$$

Enačba 1.18 je enačba premice. Če na ordinarno os nanašamo $\log (DR-1)$ na abscisno pa ustrezne logaritme koncentracije antagonista, dobimo na presečišču premice z abscisno osjo vrednost pA_2 , ki smo jo uvedli kot mero za učinkovitost antagonista že na začetku tega podpoglavja in navedli, kako jo je opredelil Schild.

Navedimo nekaj lastnosti pA_2 :

- Visok pA_2 – velika specifičnost in učinkovitost antagonista (in narobe)
- Podobne vrednosti pA_2 za isti par agonist – antagonist na različnih tkivih (organih) – podobni receptorji
- Vrednosti pA_2 istih antagonistov v kombinaciji z različnimi agonisti so enake
- Različen pA_2 z istim antagonistom na različnih tkivih kaže na različne podtipe receptorjev.

IZOLIRANI ORGANI

Za študij odnosa med koncentracijo zdravila in učinkom navadno uporabljamo izolirane organe, ker je na njih učinek agonistov precej lažje merljiv in manj občutljiv za 'motnje' kot pri poskusih na celi živali, kjer homeostatski mehanizmi spremenijo osnovni učinek in je koncentracija agonistov in antagonistov ob receptorju spremenjena zaradi farmakokinetičnih dogajanj. Tako je na izoliranih organih lažje nadzorovati koncentracijo agonista na mestu delovanja, tj. ob receptorju.

Organ ali del organa izoliramo tako, da ga bolj ali manj odstranimo iz organizma, ga damo v posebno raztopino in tam merimo njegovo delovanje.

Izolirane organe uporabljamo za naslednje vrste poskusov:

- določanje parametrov odnosa med koncentracijo in učinkom za razne agoniste in določanje disociacijske konstante kompleksa agonist-receptor,
- primerjava učinkovitosti in moči različnih agonistov,

- določanje vrste antagonizma in lastnosti antagonistov (pA_2),
- določanje (pod)tipov receptorjev (s pomočjo specifičnih antagonistov), na katere deluje določeno zdravilo,

Glede na stopnjo izolacije ločimo različne tipe izoliranih organov; največkrat se uporabljajo taki, ki so iz organizma povsem odstranjeni in dobivajo kisik, potrebne ione ter hranivo iz modificirane fiziološke raztopine, prirejene potrebam organa.

Glede na vrsto učinka so izolirani organi mišični, pri katerih na bolj ali manj direkten način merimo mišično kontrakcijo, in žlezni, pri katerih merimo sekretorni odgovor.

Mišično kontrakcijo merimo in registriramo na različne načine: čisto mehansko, ko se kontrakcija prenese in ojači preko vzvodov in mehansko zapisuje, ali z uporabo mehanskoelektričnih pretvornikov, ki kontrakcijo pretvorijo v električni signal, ki ga nato registriramo ali neposredno obdelamo z računalnikom.

Kot izolirane organe uporabljamo dele mišičnih organov poskusnih živali (diafragma, srce, črevo, uterus, duktus deferens, razne žile, traheja) ali žleze (želodec, slinavke), pač glede na to, katere agoniste in antagoniste oziroma katere receptorje želimo raziskovati.

2. OSNOVE FARMAKOKINETIKE

Metoda Lipnik Štangelj, Lovro Stanovnik in Lovro Žiberna

Farmakokinetika je področje farmakologije, ki proučuje vplive organizma na zdravilo in sicer gibanje in presnovo zdravila v organizmu, kar se kaže v spremembah koncentracije zdravila v različnih predelkih organizma. Osnovni farmakokinetični procesi so:

- absorpcija,
- distribucija (porazdelitev),
- metabolizem (biotransformacija, presnova) in
- eliminacija (odstranjevanje),

kar s kratico označujemo kot **ADME**.

Pri prehajanju zdravil med različnimi predelki v organizmu so pomembne pregrade med njimi, to so predvsem membrane celic v različnih tkivnih strukturah: stena prebavil, ledvični tubuli, stena kapilar in celice, ki obdajajo kapilare v različnih organih (hematoencefalna bariera, placenta, žleze, ledvice, jetra,).

LASTNOSTI PREGRAD MED PREDELKI ORGANIZMA

Znotrajcelično tekočino ločuje od zunajcelične celična membrana, ki jo sestavlja lipidni dvosloj. Pri prehodu skozi epitelno plast (črevo, ledvice) mora zdravilo preiti dve celični membrani. Pred prihodom zdravila v kri mora to prečiti kapilarni endotel, katerega sestava se razlikuje med organi. Med endotelnimi celicami v večini tkiv so pore, ki jih napolnjuje proteinski matriks, ki tudi deluje kot filter za prehajanje snovi. V placenti in v osrednjem živčevju so med endotelnimi celicami tesni stiki, v osrednjem živčevju plast endotelnih celic obdajajo periciti in celice glije, ki še dodatno zmanjšujejo prehajanje zdravil v osrednje živčevje. V jetrih, vranici in endokrinih žlezah so med endotelnimi celicami izrazitejša pore, ki omogočajo lažji prehod snovi.

Procesi pri prehajanju pregrad so naslednji:

- direktna difuzija skozi plasti lipidov,

- vezava na transmembranske prenašalne proteine (transporterje),
- difuzija skozi vodne pore – posebni transmembranski proteini (akvaporini),
- pinocitoza.

Poglejmo si podrobneje nekatere od teh procesov:

DIFUZIJA

S tem procesom preko membran prehajajo nepolarne molekule; te so večinoma dobro topne v lipidih. Prehajanje je odvisno od:

- koncentracijskega gradienta in
- koeficienta permeabilnosti, ki je pretežno določen s porazdelitvenim koeficientom (P):

$$P = \frac{\text{topnost v lipidih}}{\text{topnost v vodi}}$$

Večina zdravil so bodisi šibke kisline ali šibke baze; pri tem je za topnost v lipidih pomembna stopnja disociacije (ionizacije): nedisociiran del je večinoma dobro topen v lipidih.

Stopnja ionizacije v določenem okolju pa je odvisna od pH tega okolja in od vrednosti pKa učinkovine. Povezavo med pH in pKa opisuje Henderson-Hasselbachova enačba:

$$\log_{10} \frac{[BH^+]}{[B]} = pK_a - pH \quad \text{za šibko bazo in}$$

$$\log_{10} \frac{[AH]}{[A^-]} = pK_a - pH \quad \text{za šibko kislino}$$

Pri tem je pKa negativni logaritem ravnotežnostne konstante disociacije za kislino, $[BH^+]$ koncentracija ionizirane oblike baze, $[B]$ koncentracija neionizirane oblike baze, $[AH]$ koncentracija neionizirane oblike kisline in $[A^-]$ koncentracija ionizirane oblike kisline

PREHAJANJE S PRENAŠALCI

Na ta način se prenašajo fiziološko pomembne molekule (sladkorji, aminske kisline, ioni, transmittorji ...) pomemben pa je ta način tudi za zdravila, podobna endogenim snovem.

Ločimo dva načina tega prenosa:

- Facilitirana difuzija – prenos le v smeri koncentracijskega gradienta.
- Aktivni transport: prenos je sklopljen z Na^+ -elektrokemičnim gradientom.

Pri obeh načinih lahko pride do zasičenosti (saturacije) pri visoki koncentraciji liganda in do kompeticije za vezavno mesto med različnimi ligandi.

Ta proces igra pomembno vlogo pri prehajanju zdravil v hematoencefalni barieri, gastrointestinalnem traktu, ledvičnih tubulih, biliarnem traktu in placenti.

Med pomembnejšimi prenašalci je glikoprotein P, ki igra vlogo pri absorpciji in distribuciji številnih zdravil. Najdemo ga v prebavilih, v astrocitih ob žilah v možganih, v ledvičnih tubulih in biliarnem sistemu. Smer prenosa, ki ga ta glikoprotein posreduje, je taka, da zmanjšuje absorpcijo zdravil in njihov prehod na mesto delovanja.

ABSORPCIJA

Absorpcija zdravila pomeni vstop zdravila z mesta vnosa (aplikacije) v sistemski krvni obtok. Delež zdravila, ki z mesta aplikacije pride v sistemski krvni obtok, se pri različnih zdravilih in med bolniki razlikuje, kar je odvisno od več dejavnikov: načina aplikacije, farmacevtske oblike, fizikalno-kemičnih lastnosti zdravilne učinkovine, lastnosti organskega sistema, skozi katerega zdravilo vnašamo, ter fizioloških in patoloških procesov v organizmu.

Načini aplikacije

Zdravila lahko dostavimo v organizem na več načinov. Ločimo dve glavni poti dostave:

- skozi prebavila – enteralna aplikacija in
- mimo prebavil – parenteralna aplikacija.

Pri vnosu skozi prebavila je aplikacija zdravila lahko:

- peroralna – zdravilo bolnik zaužije,
- sublingvalna – zdravilo bolnik obdrži pod jezikom,
- rektalna – zdravilo se aplicira v rektum.

Pri zadnjih dveh načinih se zdravilo izogne prehodu skozi jetra in s tem metabolizmu še pred vstopom v sistemsko cirkulacijo (metabolizem prvega prehoda).

Načini parenteralne aplikacije so številni, najpogostejši so:

- aplikacija na druge epitelne površine: koža, kornea, vagina in nosna sluznica
- inhaliranje
- injiciranje ali infundiranje, ki ga poznamo več vrst:
 - intravensko (i.v.)
 - subkutano (s.c.)
 - intramuskularno (i.m.)
 - intratekalno (i.t.)
 - idr.

Intravenski vnos zagotavlja, da celotna količina apliciranega zdravila pride v sistemski obtok.

Včasih želimo, da zdravilo deluje le lokalno, v omejenem področju telesa (koža, različne sluznice, dihalne poti). V teh primerih pa sistemska absorpcija ni zaželena.

Farmacevtske oblike

Hitrost in mesto sproščanja učinkovine iz zdravilnega pripravka je odvisno od izbrane farmacevtske oblike. Poznamo farmacevtske oblike, iz katerih se učinkovina sprosti hitro, pa tudi take, iz katerih se učinkovina sprošča postopoma ali z zakasnitvijo. Farmacevtska oblika določa tudi, v katerem delu prebavil (pri peroralnih pripravkih) se bo učinkovina sprostila.

fizikalno-kemične lastnosti zdravilne učinkovine

Prehajanje bioloških membran je v veliki meri odvisno od topnosti v maščobah (lipofilnosti) in velikosti delcev. Pri šibkih organskih kislinah oz. bazah je lipofilnost odvisna od stopnje disociacije.

Lastnosti organskega sistema, skozi katerega vnašamo zdravilo

Razen pri venskem vnosu so med apliciranim zdravilom in sistemskim obtokom prisotne številne bariere, katerih narava je odvisna od organskega sistema. Pri prebavilih je to črevesna sluznica, pri dihalih alveolarna stena, pri koži njene različne plasti. Pri prehajanju preko barier so pogosto udeleženi transportni sistemi, ki zdravilo lahko prenašajo v eno ali drugo smer.

Peroralni način vnosa zdravil je najbolj pogost in za bolnika najbolj udoben. Večina zdravil se po peroralnem vnosu absorbira v tankem črevesu in najvišjo koncentracijo v krvi doseže po 30 do 60 minutah. Je pa absorpcija pri tem načinu vnosa spremenljiva in odvisna od fizioloških in patoloških dejavnikov, ki jih omenjamo v nadaljevanju. Med zdravilom v črevesu in sistemskim obtokom predstavlja poleg lokalnih barier oviro tudi prehod skozi jetra.

Vnos zdravil preko pljuč je omejen na pline (inhalacijski splošni anestetiki, kisik); za dostop do sistemske cirkulacije morajo ti preiti alveolarno steno, ki ima veliko absorpcijsko sposobnost. Seveda pa v dihala vnašamo tudi zdravila, ki so namenjena lokalnemu delovanju (v steni bronhijev). Epitelij v bronhialnem sistemu namreč predstavlja učinkovito bariero za eksogene snovi. Za razliko od bronhialne sluznice pa je nosna sluznica primerna tudi za aplikacijo zdravil, pri katerih želimo doseči sistemske učinke (analogi peptidnih hormonov – GnRH, kalcitonin, antidiuretični hormon ...).

Koža predstavlja učinkovito bariero med zunanjim in notranjim okoljem, kljub temu pa lahko pride preko kože tudi do sistemske absorpcije eksogenih snovi. To je pomembno za aplikacijo nekaterih zdravil (gliceril trinitrat, estradiol, nikotin, morfin – aplikacija z obliži) predstavlja pa tudi možnost absorpcije toksičnih snovi (CCl₄, organska topila, tetraetil svinec, živo srebro, organofosforni insekticidi, ...)

Fiziološki in patološki procesi

Pri vseh mestih vnosa zdravil prekrvljenost organa oz. tkiva pomembno vpliva na obseg in hitrost absorpcije. Prekrvljenost je odvisna od fiziološkega stanja, spremenjena je tudi v patoloških razmerah. Poleg tega je podvržena vplivu raznih zdravil.

Na obseg in hitrost absorpcije iz prebavil poleg prekrvljenosti vplivajo še druge fiziološke razmere v prebavilih:

- prisotnost hrane in drugih zdravil,
- intenzivnost peristaltike in
- pH v prebavilih,

pri čemer so te lastnosti med sabo povezane.

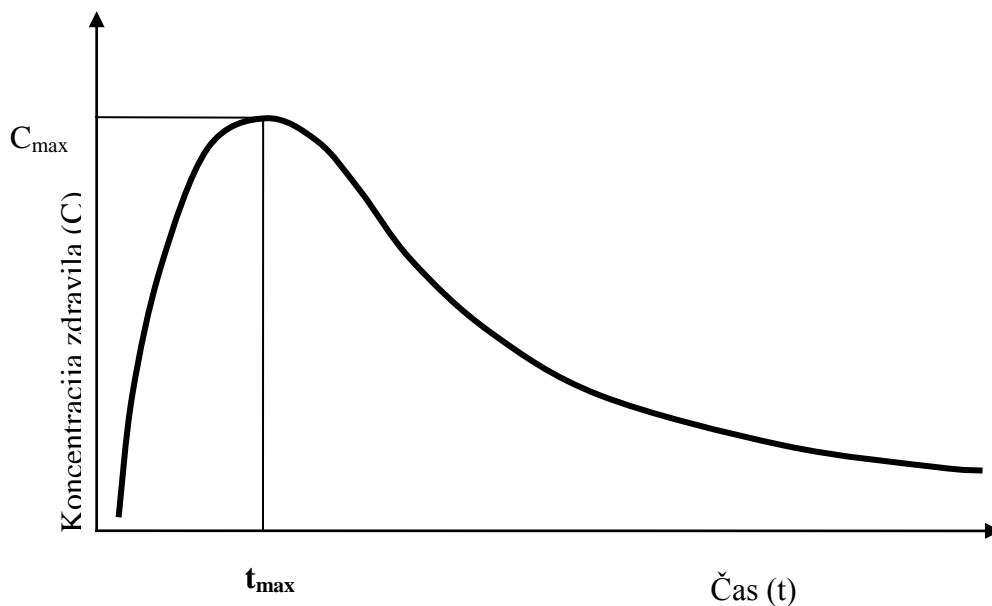
V patoloških razmerah so spremenjene že prej omenjene lastnosti poleg tega pa lahko pride do sprememb sluznice (spremenjena funkcionalnost in absorpcijska površina), do spremenjene sekrecije žlez in žolča in/ali do sprememb črevesne flore.

Pri dihalih vpliva na absorpcijo tudi spremenjena absorpcijska površina (emfizem) in spremenjena dihalna kapaciteta.

Pri patološko spremenjeni koži se lahko absorpcija znatno poveča.

Parametri absorpcije

Potek plazemske koncentracije zdravila, apliciranega per os v enem odmerku, je prikazan na Sliki 2.1.. Koncentracija zdravila v plazmi v začetku hitro in nato vse počasneje narašča do vrha in nato upada. Velikost vrha koncentracije (C_{max}) in čas, ki je potreben za doseg tega vrha (t_{max}), nam povesta nekaj o tem, kaj se z zdravilom dogaja na poti v sistemski obtok in tudi o njegovi eliminaciji iz organizma. Oba parametra sta pomembna, kadar primerjamo lastnosti originalnega zdravila in njegove kopije (generik).



Slika 2.1: Spreminjanje koncentracije zdravila v plazmi s časom po enkratnem odmerku peroralno vnesenega zdravila. C_{\max} - vrh koncentracije zdravila v plazmi, t_{\max} - čas, v katerem je dosežen C_{\max}

Biološka uporabnost

Biološka uporabnost (BU) zdravila je kvantitativno merilo **obsega absorpcije** zdravila in predstavlja delež apliciranega odmerka zdravila, ki v nespremenjeni obliki pride v sistemski krvni obtok.

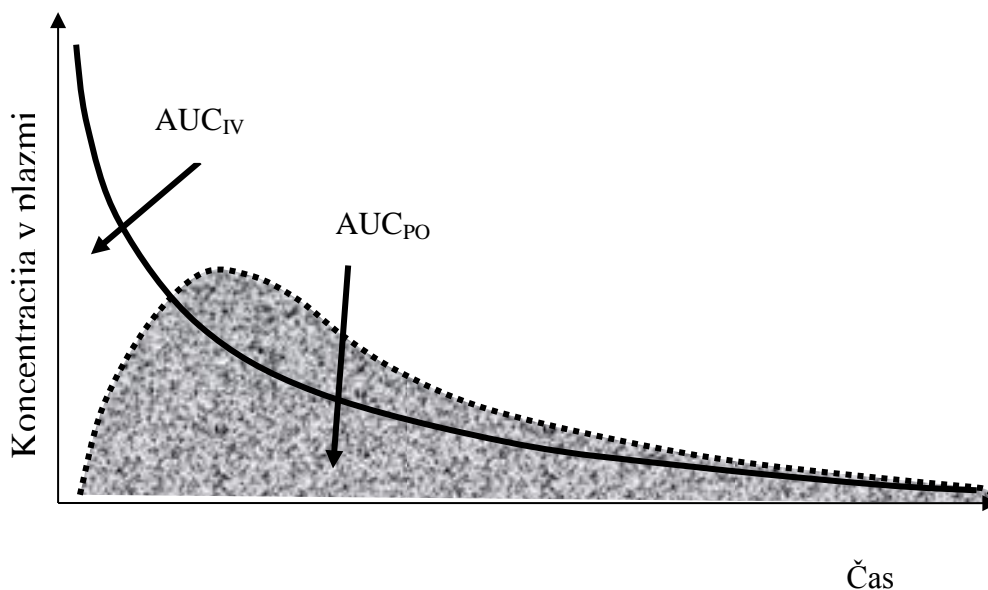
Biološko uporabnost določamo s pomočjo površine pod krivuljo (**AUC** - *angl. area under the curve*), ki ponazarja odnos med koncentracijo zdravila v plazmi in časom po aplikaciji zdravila v enkratnem odmerku (slika 2.2).

Za določitev BU določimo razmerje med površino pod krivuljo spreminjanja plazemskih koncentracij zdravila s časom, ki jo dobimo po peroralni (oz. intramuskularni, rektalni, ...) aplikaciji zdravila v enkratnem odmerku, in površino pod krivuljo spreminjanja plazemskih

koncentracij zdravila s časom, ki jo dobimo po intravenski aplikaciji tega zdravila v enakem enkratnem odmerku (enačba 2.1).

$$BU = \frac{AUC_{PO}}{AUC_{IV}} \quad (\text{Enačba 2.1})$$

Pri tem je BU biološka uporabnost zdravila, AUC_{PO} ploščina pod krivuljo, ki ponazarja odnos med koncentracijo zdravila v plazmi in časom po peroralni aplikaciji tega zdravila v enkratnem odmerku, AUC_{IV} ploščina pod krivuljo, ki ponazarja odnos med koncentracijo zdravila v plazmi in časom po intravenski aplikaciji tega zdravila v enkratnem odmerku.



Slika 2.2: Spreminjanje koncentracije zdravila v plazmi s časom: po intravenskem vnosu tega zdravila v enkratnem odmerku ter po peroralnem vnosu enakega odmerka.

AUC_{PO} ploščina pod krivuljo, ki ponazarja odnos med koncentracijo zdravila v plazmi in časom po peroralni aplikaciji tega zdravila v enkratnem odmerku

AUC_{IV} ploščina pod krivuljo, ki ponazarja odnos med koncentracijo zdravila v plazmi in časom po intravenski aplikaciji tega zdravila v enkratnem odmerku

Biološka uporabnost ima vrednosti od 0 do 1, pri čemer vrednost 1 predstavlja 100 % absorpcijo. Imenujemo jo tudi **faktor absorpcije (f ali F)** (*angl. fraction absorbed*).

Na biološko uporabnost vplivajo že omenjeni faktorji, ki vplivajo na obseg absorpcije zdravila, pa tudi tisti, ki vplivajo na metabolizem ob prvem prehodu skozi jetra.

O biološki uporabnosti govorimo predvsem pri zdravilih, ki jih dajemo peroralno; je pa pojem uporaben tudi pri drugih načinih aplikacije zdravil (razen, seveda, pri intravenskem).

Biološka uporabnost pri različnih vnosih zdravil:

- pri p.o. vnosu je 5 do 100%
- pri rektalnem vnosu je 30 do 100%
- pri i.m., s.c. in transdermalnem vnosu je 75 do 100%

PORAZDELITEV (DISTRIBUCIJA)

Po absorpciji se zdravilo porazdeli po organizmu. Na porazdelitev zdravila vplivajo lastnosti bolnika (starost, spol, stanje, konstitucija telesa), fizikalno-kemične lastnosti zdravilne učinkovine (lipidotopnost, velikost molekule, pKa), lastnosti tkiva (razlike v lastnostih med maščevjem, žleznim parenhimom, mišičjem, kostnino, velikost tkiva oz. organa ...), telesne pregrade (npr. placenta, krvno-možganska pregrada) ter fiziološki in patološki procesi (npr. prekrvljenost, pretok, pH, vnetje) v organizmu. Nekatera zdravila se v velikem obsegu vežejo na proteine v plazmi (npr. acetilsalicilna kislina), zato na njihovo porazdelitev močno vpliva plazemska koncentracija albumina, ali pa se kopičijo v posameznih tkivih (npr. tetraciklini v kosteh in zobeh). Porazdelitev zdravila vpliva na njegov čas delovanja in na nastanek morebitnih depojev, iz katerih se lahko kasneje učinkovina sprošča.

Obseg porazdelitve zdravila določamo z **volumnom porazdelitve (V_d)** zdravila. Volumen porazdelitve zdravila je tisti navidezni volumen, v katerem bi se porazdelilo zdravilo, da bi bila celotna količina absorbiranega zdravila v njem enakomerno porazdeljena, in sicer v

koncentraciji, ki je enaka koncentraciji tega zdravila v plazmi. Volumen porazdelitve zdravila določamo s pomočjo razmerja med celotno količino absorbiranega zdravila in koncentracijo tega zdravila v plazmi (enačba 2.2).

$$V_d = \frac{BU \cdot D}{C_0} = \frac{Q}{C_0} \quad (\text{Enačba 2.2})$$

Pri tem je V_d - volumen porazdelitve zdravila, BU - biološka uporabnost zdravila, D - odmerek zdravila, C_0 - začetna koncentracija zdravila v plazmi (v času 0; ta je določen z ekstrapolacijo padajočega dela krivulje), Q - celotna količina absorbiranega zdravila

Zdravila, ki se v velikem obsegu kopičijo v predelkih izven plazme, imajo lahko večji V_d , kot je celotni volumen telesnih tekočin. Prehod iz znotrajžilnega (vaskularnega) prostora v ekstravaskularni prostor je odvisen od koncentracije prostega zdravila v plazmi, saj le ta frakcija lahko prehaja iz kapilar. Če je velik delež zdravila vezan na plazemske beljakovine, bo to zdravilo v manjši meri prehajalo iz žil in se bo zato manj kopičilo v tkivih.

PRESNOVA (METABOLIZEM)

Vneseno zdravilo predstavlja tujek v telesu, zato ga poskuša organizem čim prej odstraniti iz telesa. Iz organizma se najlažje izločajo vodotopne snovi, zato pri presnovi nastajajo čim bolj vodotopni metaboliti.

Presnovne reakcije potekajo predvsem v jetrih, lahko pa potekajo tudi v prebavilih, pljučih, koži in plazmi (npr. hidroliza). Na presnovo vplivajo lastnosti bolnika, kot so njegov genotip, starost, razvade in bolezni. Poleg tega na presnovo vplivajo tudi fizikalno-kemijske lastnosti zdravila ter indukcija in/ali inhibicija presnovnih encimov.

Faze metabolizma

Presnovne reakcije potekajo večinoma v dveh fazah:

1. v I. fazi potekajo reakcije razgradnje ali katabolične reakcije. Sem spadajo oksidacije, redukcije, hidrolize, dealkilacije, deaminacije ipd. Produkti, ki nastanejo, so pogosto bolj reaktivni in lahko tudi bolj toksični. Povečana reaktivnost produktov I. faze je hkrati priprava molekule na II. fazo presnove. Najpogostejše reakcije v tej fazi so oksidacije. Katalizirajo jih :

- encimi iz družin citokrom P450 (CYP) oksidaz. Poleg jetrnih celic se ti encimi nahajajo tudi v drugih tkivih (osrednjem živčevju, koži...). Udeleženi so tako pri biosintezi endogenih sestavin organizma (npr. steroidov, žolčnih kislin, eikozanoidov), kot tudi pri presnovi ksenobiotikov. Za slednje velja majhna selektivnost za substrat, zato je veliko možnosti za kompeticijo med različnimi substrati in CYP oksidazami. Za encime družin CYP oksidaz velja tudi možnost indukcije in inhibicije, ki so skupaj s kompeticijo vir mnogih interakcij med zdravili. Znani induktorji CYP oksidaz so barbiturati, rifampicin, omeprazol, fibrati, pa tudi etanol. Po drugi strani mnoge snovi zavirajo metabolizem v jetrih, npr. cimetidin, imipramin, kotrimoksazol, metronidazol, amjodaron, ciprofloksacin. Metabolne encime zavira tudi sok grenivke. Za encime CYP oksidaz je značilna velika variabilnost porazdelitve izoencimov, ki je posledica polimorfizma genov med posamezniki in/ali rasami.
- drugi encimi: alkohol-dehidrogenaza (etanol), ksantin-oksidaža (6-merkaptopurin), monoamin-oksidaža (biološko aktivni amini: noradrenalin, adrenalin, serotonin idr.).

2. Če nastali produkt I. faze metabolizma še vedno ni dovolj vodotopen, sledi II. faza metabolizma, za katero so značilne anabolične (sintezne) reakcije. Najpogosteje so to konjugacije, pri katerih nastanejo konjugati z glukuronsko kislino (UDP-glukuronoziltransferaza), z glutationom (glutation-S-transferaza), z žvepleno kislino (sulfotransferaza), z očetno kislino (N-acetiltransferaza), z metilno skupino (tiopurin-metiltransferaza). Konjugati so običajno farmakološko neučinkoviti in bolj vodotopni, kar olajša njihovo izločanje skozi ledvice.

Mnoga zdravila pri ponavljajočih odmerkih povečujejo aktivnost tako mikrosomalnih oksidaz kot tudi konjugacijskih encimov (npr. rifampicin, karbamazepin). Ta učinek imenujemo indukcija, in je posledica povečane sinteze encimov ali pa upočasnjene razgradnje encimov. Indukcija pospeši razgradnjo, lahko pa tudi poveča toksičnost zdravil, pri katerih so metaboliti I faze toksični. Obratno lahko nekatera zdravila zavirajo aktivnost encimov, in podaljšajo zadrževanje zdravila v organizmu.

Metabolizem prvega prehoda

Poseben pomen pri presnovi zdravil ima t. i. **metabolizem prvega prehoda**, t.j. razgradnja zdravila, še preden le-to dospe v sistemski krvni obtok. Metabolizem prvega prehoda lahko poteka že v celicah črevesne sluznice, predvsem pa poteka pri prvem prehodu skozi jetra. Zdravila, ki se v velikem obsegu razgradijo, še preden dospejo v sistemski krvni obtok, so: acetilsalicilna kislina, nitroglicerin, levodopa, lidokain, metoprolol, morfin idr. Metabolizem prvega prehoda je pomemben, ker lahko močno zmanjša biološko uporabnost zdravila. Zaradi tega so potrebni večji odmerki, zaradi individualne variabilnosti v obsegu metabolizma pa variira tudi biološka uporabnost takega zdravila. Nekaterih zdravil zaradi majhne biološke uporabnosti ne moremo uporabljati peroralno in moramo uporabiti druge poti vnosa zdravila.

Vrste metabolitov

Metabolizem je prvenstveno namenjen pretvorbi snovi v vodotopno obliko, ki se lahko izloči skozi ledvice. Pri tem pa se pri zdravilih po navadi spremeni tudi njihov učinek.

1. V večini primerov pri presnovi nastanejo metaboliti, ki so brez učinka.
2. V nekaterih primerih se farmakodinamični profil zdravila pri presnovi spremeni. Takšen primer je acetilsalicilna kislina, ki ima protivnetni in antitrombotični učinek. Po hidrolizi

nastane iz nje salicilna kislina, ki ima prav tako protivnetni učinek, nima pa antitrombotičnega učinka.

3. Farmakodinamični učinek lahko po presnovi ostane enak ali podoben. Takšen primer so benzodiazepini, pri katerih imajo mnogi učinkovite metabolite, ki delujejo še potem, ko izvorna spojina že povsem izgine iz telesa (npr. diazepam in njegova presnovka nordiazepam in oksazepam). Učinkovit je tudi morfin-6-glukuronid, ki je metabolit morfina.

4. Metabolit je lahko tudi toksična spojina, npr. trifluoroocetna kislina, ki je metabolit halotana, fluorid, ki je metabolit metoksiflurana, akrolein, ki je metabolit ciklofosfamida. Včasih pride do nastanka toksičnih metabolitov šele v primeru, ko je prekoračen dovoljeni odmerek, in se zdravilo prične presnavljati po drugih encimskih poteh. Takšen toksičen metabolit je N-acetil-p-benzokinonimin, ki nastane pri prekomernem odmerjanju paracetamola.

5. V nekaterih primerih postane spojina farmakološko učinkovita šele po presnovi snovi, ki jo vnesemo v telo. V takem primeru govorimo o vnosu pred-zdravila, pri katerem izkoristimo telesu lastne presnovne procese, ki pretvorijo spojino v metabolit, ki ima farmakodinamične učinke.

Entero-hepatično kroženje

Različni hidrofilni konjugati, predvsem glukuronidi, se koncentrirajo v žolču in se skupaj z njim izločajo v črevo. V črevesu hidrolizirajo, sproščena učinkovina pa se ponovno absorbira.

Ta pojav imenujemo entero-hepatično kroženje. Posledica takšnega kroženja je:

- nastanek rezervoarja učinkovine, ki kroži in predstavlja pomemben delež celokupne količine učinkovine v organizmu
- podaljšan čas delovanja zdravila.

Primeri takšnih snovi sta morfin in etinilestradiol.

IZLOČANJE (EKSKRECIJA) OZ. ODSTRANJEVANJE (ELIMINACIJA)

Odstranjevanje (eliminacija) zdravila in njegovih metabolitov iz telesa poteka na več načinov: hidrofilna zdravila se izločajo preko ledvic, lipofilna, ki se v ledvicah slabo izločajo (vezava na plazemske beljakovine, difuzija iz ledvičnih tubulov nazaj v sistemski obtok) pa so podvržena biotransformaciji, ki jih pretvori v bolj vodotopne metabolite; ti se hitreje izločajo preko ledvic. Številni metaboliti zdravil se izločajo z žolčem, kjer pa so pogosto podvrženi spremembam v črevesu in ponovni absorpciji. Zaključimo lahko, da so glavni organ za odstranjevanje zdravil iz organizma ledvice, pomembna so tudi jetra s svojo biotransformacijsko in sekretorno vlogo. Pri inhalacijskih splošnih anestetikih so pomemben organ za eliminacijo pljuča. Izločanje zdravil v mleku je bolj kot za mater, pomembno za dojenčka. Izločanje s slino in znojem je bolj kot za kinetiko zdravil pomembno iz estetskih razlogov (česen). Eliminacija se začne takoj ob vnosu zdravila v telo.

FARMAKOKINETSKI MODELI IN PARAMETRI

Kvantitativno merilo **sposobnosti izločanja** zdravila je **očistek** ali **klirens (Cl)** (*angl. clearance*) zdravila. Ker so ledvice najpomembnejši organ za izločanje zdravil in ker je bil klirens najprej opredeljen za ledvice, si pogledjmo definicijo ledvičnega klirensa: To je volumen plazme, ki vsebuje količino zdravila, ki se v enoti časa izloči preko ledvic. Izračunamo ga s pomočjo enačbe 2.3:

$$Cl_{ren} = \frac{C_u \cdot V_u}{C_p} \quad (\text{Enačba 2.3})$$

Cl_{ren} - ledvični klirens, C_u in C_p koncentracija zdravila v urinu oz. v plazmi in V_u pretok urina

Za vsakega od organov, ki pomembno prispevajo k eliminaciji zdravila, lahko izračunamo klirens. Poleg ledvičnega pogosto govorimo o jetrnem klirensu (Cl_{hep}), ki tudi pomembno

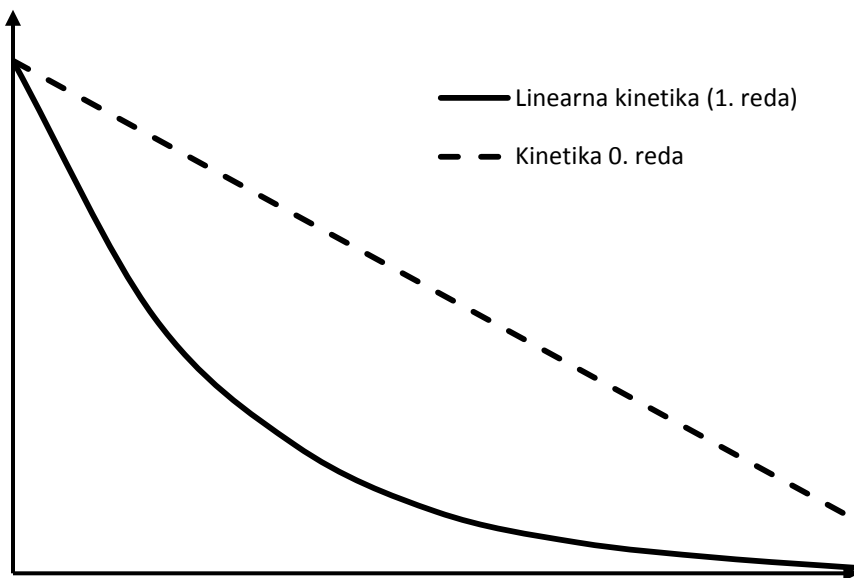
prispeva k celokupnemu klirensu (Cl_{tot}), ki je opredeljen kot volumen plazme, ki se v enoti časa popolnoma očisti določene snovi, ne glede na pot eliminacije. Cl_{tot} je vsota klirensov organov, udeleženih pri eliminaciji zdravila, in je mera za hitrost eliminacije zdravila iz organizma:

$$\text{Hitrost eliminacije zdravila} = C_p \times Cl_{tot} \quad (\text{Enačba 2.4})$$

Klirens je farmakokinetički parameter, ki ni odvisen od modela, s katerim opisujemo farmakokinetiko zdravila.

Red farmakokinetičkih procesov

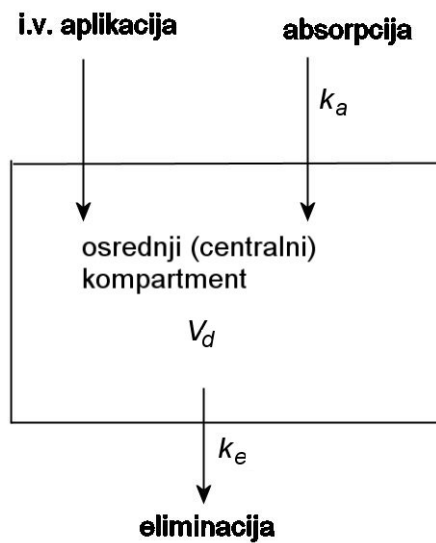
Pri analizi farmakokinetičkih procesov se večinoma ukvarjamo z upadanjem koncentracije zdravila v plazmi, saj je ta proces precej bolj dostopen analizi kot naraščanje njegove koncentracije v teku absorpcije. Večina farmakokinetičkih procesov je takih, da je hitrost upadanja koncentracije zdravila v plazmi sorazmerna njegovi koncentraciji; v teh primerih govorimo o kinetiki 1. reda ali o linearni kinetiki. Funkcija, ki opisuje upadanje koncentracije zdravila pri tej kinetiki, je eksponentna, prikazana v enačbi 2.6 in naslednjih enačbah. Poznamo tudi kinetiko 0 (ničelnega) reda, kjer je hitrost upadanja koncentracije zdravila neodvisna od njegove koncentracije, torej konstantna (n.pr. etanol). V tem primeru je funkcija linearna. Vrsta kinetike je lahko odvisna tudi od koncentracije zdravila v plazmi: pri nižjih koncentracijah gre za kinetiko 1. reda (linearno kinetiko), pri visokih koncentracijah pa lahko pride do zasičenja mehanizmov eliminacije, hitrost eliminacije je v takem primeru neodvisna od koncentracije zdravila (kinetika 0. reda). (Slika 2.3)



Slika 2.3: Prikaz upadanja koncentracije zdravila (ordinatna os) v času (abscisna os) pri kinetiki 1. reda (linearna kinetika) in pri kinetiki 0. reda.

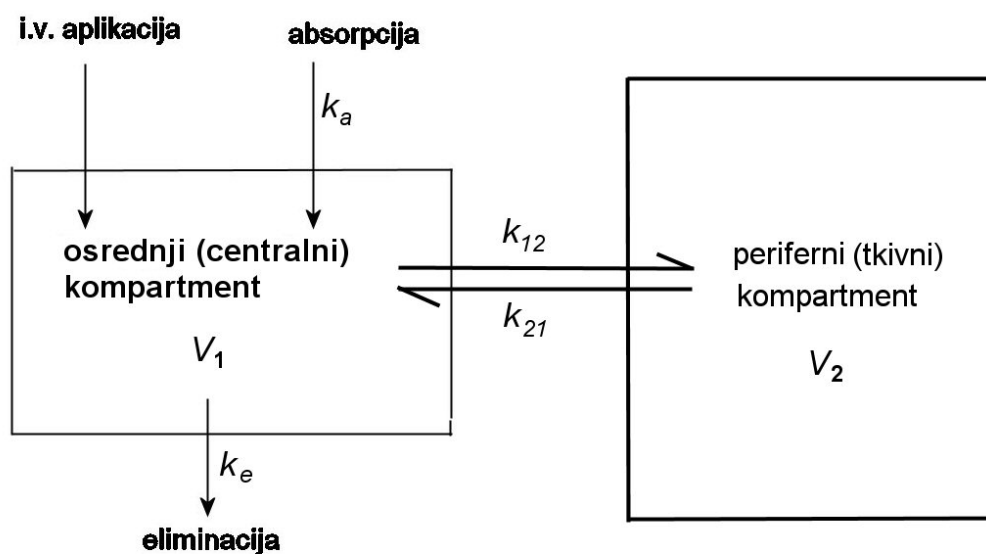
Farmakokinetski modeli

Za lažjo interpretacijo farmakokinetskih procesov uporabljamo farmakokinetske modele, s katerimi ponazorimo dogajanje v organizmu. Najbolj preprost je enoprostorski (enokompartmentni) model; prikazan je v Sliki 2.4. Zdravilo vstopa s procesom absorpcije ali neposredno (ob intravenskem injiciranju) v osrednji prostor (kompartment), v katerem se relativno hitro enakomerno porazdeli, tako da je njegova koncentracija v celotnem prostoru enaka. Ta osrednji kompartment lahko ustreza anatomskemu kompartmentu (npr. plazma) ni pa to nujno, če zdravilo hitro prehaja v določene predele intersticija. Iz osrednjega kompartmenta se zdravilo s procesom eliminacije odstranjuje.



Slika 2.4: Enoprostorski (enokompartmentni) model. Zdravilo lahko vnesemo v osrednji kompartment direktno (i.v. injiciranje) ali vanj vstopa s procesom absorpcije. Iz osrednjega kompartmenta se zdravilo odstranjuje s procesi eliminacije. k_a in k_e konstanta hitrosti absorpcije oz. eliminacije, V_d volumen porazdelitve.

Pri številnih zdravilih pa njihove farmakokinetike ni mogoče opisati s tem modelom in je treba uporabiti model več kompartmentov, za večino zdravil zadoščata dva. Dvokompartimentni model je prikazan na Sliki 2.5.



Slika 2.5: Dvoprostorski (dvokompartmentni) model. Zdravilo vstopa v osrednji kompartment in se iz njega tudi eliminira. Iz osrednjega kompartmenta pa prehaja v periferni kompartment in iz njega nazaj v osrednjega. k_a in k_e konstanta hitrosti absorpcije oz. eliminacije, V_1 volumen osrednjega kompartmenta, V_2 volumen perifernega kompartmenta, k_{12} in k_{21} konstanta hitrosti prehajanja iz osrednjega v periferni oz. iz perifernega v osrednji kompartment.

Spreminjanje plazemske koncentracije zdravila pri enoprostorskem modelu

Funkcija, ki opisuje hitrost upadanja koncentracije zdravila pri kinetiki 1. reda, v enoprostorskem modelu, je prikazana v enačbi 2.5:

$$\frac{dC_p}{dt} = k_e C_p \quad (\text{Enačba 2.5})$$

iz tega lahko ob omejitvi pogojev in z integriranjem izvedemo:

$$C_t = C_0 \cdot e^{-k_e t} \quad (\text{Enačba 2.6})$$

Pri tem je C_p – koncentracija zdravila v plazmi, C_0 - začetna koncentracija v plazmi, C_t – koncentracija v plazmi v času t , k_e – konstanta hitrosti eliminacije.

Z logaritmiranjem dobimo:

$$\ln C_t = \ln C_0 - k_e t \quad (\text{Enačba 2.7})$$

Za čas, v katerem pade koncentracija zdravila v plazmi na polovico (razpolovni čas zdravila - $t_{1/2}$), velja:

$$\ln \left(\frac{C_0}{2} \right) = \ln C_0 - k_e t_{1/2} \quad (\text{Enačba 2.8})$$

in:

$$\ln C_0 - \ln 2 = \ln C_0 - k_e t_{1/2} \quad \text{in} \quad t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e} = \frac{0,693}{k_e} \quad (\text{Enačba 2.9})$$

Farmakokinetični parameter $t_{1/2}$ se uporablja veliko pogosteje kot konstanta hitrosti eliminacije.

Iz enačb 2.2, 2.4, 2.5 in 2.9 lahko izvedemo povezavo med celokupnim klirensom (Cl_{tot}), volumnom porazdelitve zdravila (V_d) in razpolovnim časom ($t_{1/2}$):

$$t_{1/2} = \frac{0,693 \cdot V_D}{Cl_{tot}} \quad (\text{Enačba 2.10})$$

Podobne relacije kot za eliminacijo zdravila veljajo za njegovo absorpcijo, le da je tam koncentracijo zdravila na mestu absorpcije in konstanto hitrosti absorpcije praktično nemogoče določiti. Tudi pri procesih absorpcije gre večinoma za kinetiko 1. reda.

$$\frac{dC_{pr}}{dt} = -k_a \cdot C_{pr} \quad (\text{Enačba 2.11})$$

kjer je: C_{pr} koncentracija zdravila na mestu absorpcije (prebavila), k_a konstanta hitrosti absorpcije.

Spreminjanje koncentracije zdravila v plazmi po peroralni aplikaciji je rezultanta dveh procesov, tistega ob absorpciji (enačba 2.11) in ob eliminaciji zdravila (Enačba 2.6):

$$\frac{dC_p}{dt} = k_a \cdot C_{pr} - k_e C_p \quad (\text{Enačba 2.12})$$

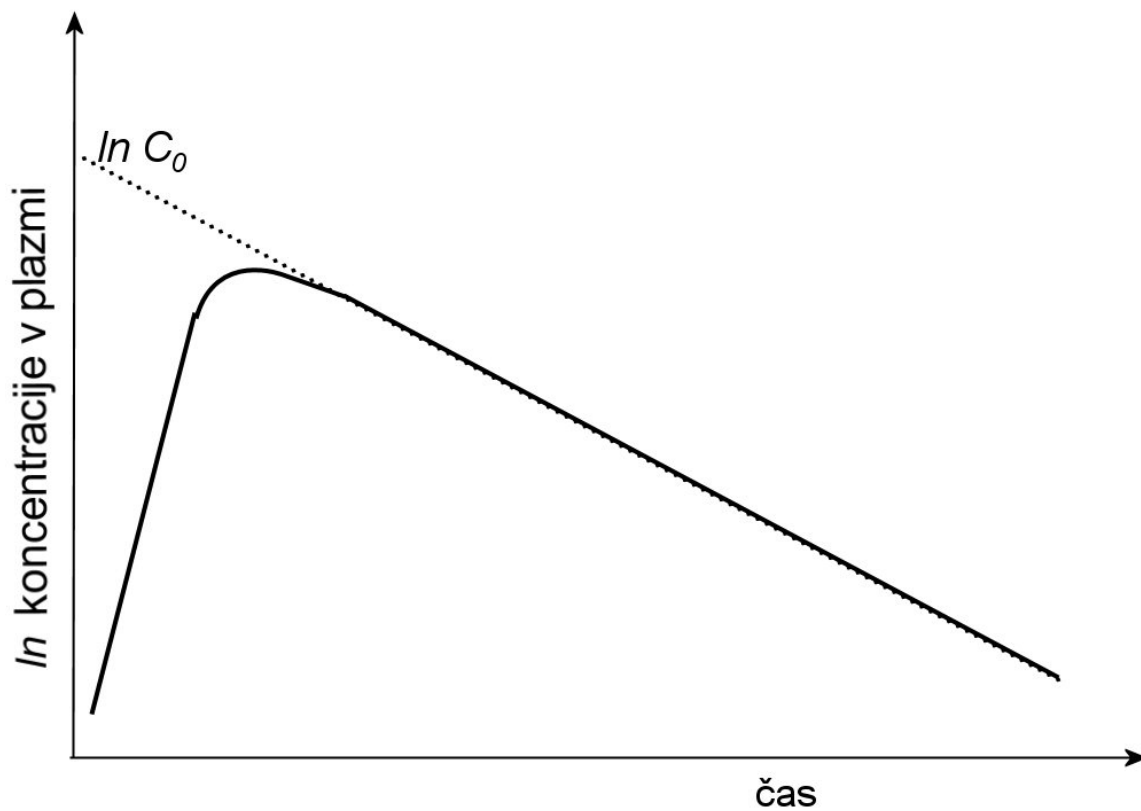
pri tem je C_{pr} koncentracija zdravila v prebavilih, k_a in k_e pa konstanta hitrosti absorpcije oz. eliminacije.

Z integriranjem funkcije (2.12) dobimo funkcijo, ki opisuje spreminjanje koncentracije zdravila v plazmi po peroralni aplikaciji:

$$C_p = C_0 \frac{k_a}{k_a - k_e} \left(e^{-k_e t} - e^{-k_a t} \right) \quad (\text{Enačba 2.13})$$

C_p je koncentracija v plazmi v času t , C_0 je začetna koncentracija zdravila v plazmi, opredeljena z odmerkom in volumnom distribucije (enačba 2.2), k_a in k_e pa konstanta hitrosti absorpcije oz. eliminacije.

C_0 lahko določimo tudi z ekstrapolacijo padajočega dela krivulje v grafu na sliki 2.1 na ordinatno os, če na ordinatni osi uporabimo logaritemsko skalo (Slika 2.6)



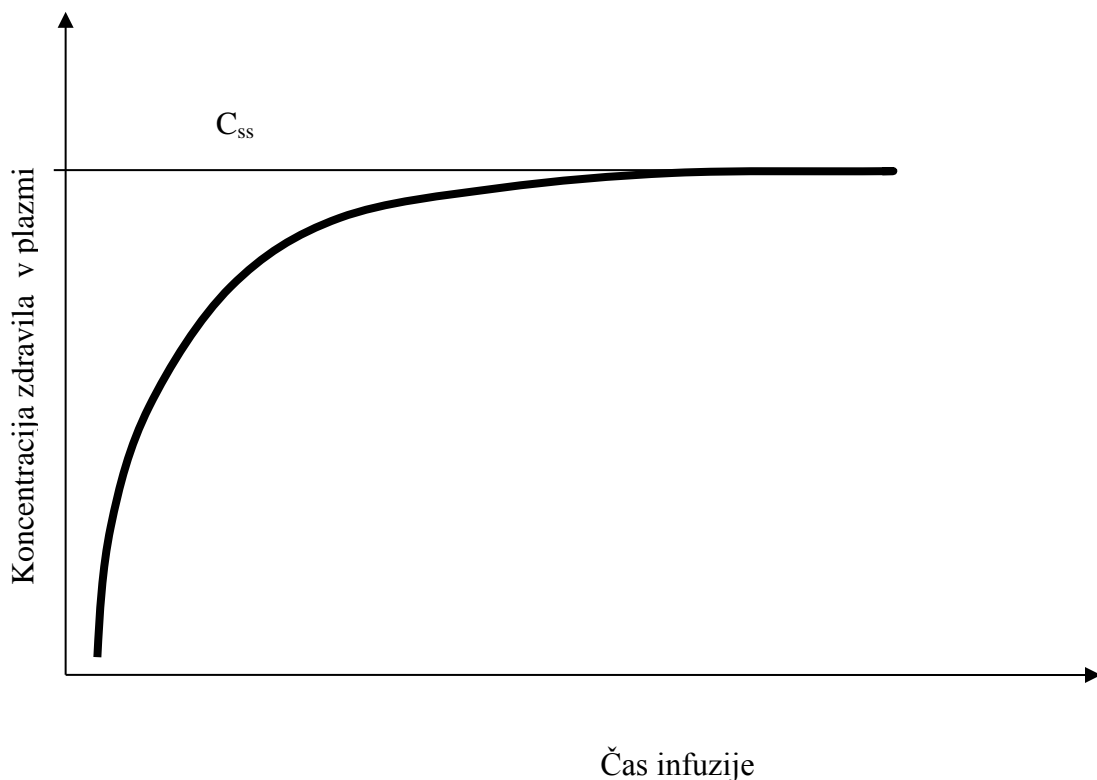
Slika 2.6: Časovni potek plazemske koncentracije zdravila, danega per os. Določitev presečišča descendentnega dela krivulje z ordinatno osjo (ekstrapolacija na ordinatno os). Pri intravenski aplikaciji je to začetna koncentracija zdravila oz. koncentracija v času 0 (C_0).

Enakomerna intravenska infuzija zdravila

Če v organizem intravensko infundiramo zdravilo s konstantno hitrostjo (v mol/min), njegova koncentracija v plazmi eksponentno narašča, saj obenem poteka eliminacija zdravila (ta je pri kinetiki 1. reda eksponentna funkcija), do neke ravnotežne koncentracije (C_{ss} , ss – steady state), ko postane hitrost vnosa in eliminacije enaki. Časovni potek koncentracije zdravila v plazmi v takem primeru je prikazan na sliki 2.8. Koncentracija zdravila v plazmi ob določenem času (C_t) po začetku infuzije je ponazorjena z enačbo 2.14.

$$C_t = C_{ss} (1 - e^{-k_e t}) \quad (\text{Enačba 2.14})$$

pri čemer je C_t koncentracija zdravila po določenem času od začetka infuzije, C_{ss} koncentracija zdravila v ravnotežnem stanju in k_e konstanta hitrosti eliminacije



Slika 2.7 Časovni potek koncentracije zdravila v plazmi ob infuziji zdravila s konstantno hitrostjo. C_{ss} koncentracija zdravila v plazmi ob ravnotežju. Čas, potreben za doseg ravnotežne koncentracije, je $3 - 5 t_{1/2}$.

Iz enačbe 2.14 lahko izračunamo čas, ki je potreben, da se doseže (skoraj) ravnotežna koncentracija zdravila v plazmi: za 95% ravnotežne koncentracije je potrebno $4,3 t_{1/2}$.

V času ravnotežne koncentracije zdravila v plazmi ($C_p = C_{ss}$) je hitrost vnosa zdravila v organizem enaka hitrosti njegove eliminacije (Enačba 2.4).

$$\text{Hitrost vnosa zdravila} = C_{ss} \times Cl_{tot} \quad (\text{Enačba 2.15})$$

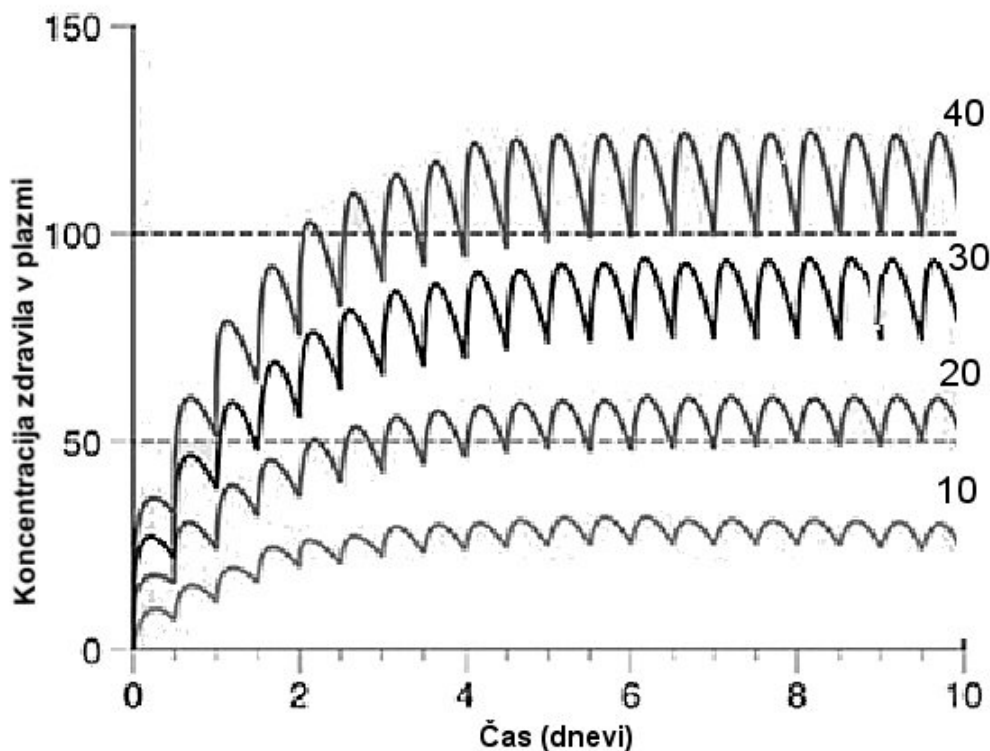
in

$$C_{ss} = \frac{\text{hitrost vnosa zdravila}}{Cl_{tot}} \quad (\text{Enačba 2.16})$$

Pri tem je Cl_{tot} celokupni klirens zdravila.

Večkratna peroralna aplikacija zdravila

Kadar zdravilo dajemo peroralno v enakomernih časovnih presledkih (ki morajo biti krajši kot $3-5 t_{1/2}$; v tem času namreč koncentracija v plazmi pade (skoraj) na nič), je potek koncentracije podoben, kot tisti na Sliki 2.7, le da v tem primeru koncentracija zdravila niha ob koncentraciji, prikazani na Sliki 2.7. Potek koncentracije zdravila v plazmi pri večkratnem dajanju je prikazan na Sliki 2.8.



Slika 2.8 Časovni potek koncentracije zdravila v plazmi pri ponavljajočih se različnih peroralnih odmerkih (10, 20, 30 40) zdravila. Interval dajanja je pri vseh odmerkih enak.

Pri takem načinu dajanja so vrhovi koncentracije v času, ko je ravnotežje že doseženo (na desni strani Slike 2.8) – $C_{SS,max}$, določeni z enačbo 2.17:

$$C_{SS,max} = \frac{F \cdot doza}{V_{SS} \cdot \left(1 - e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T}\right)} \quad (\text{Enačba 2.17})$$

Pri tem je F – biološka uporabnost zdravila, T - interval med dozami, V_{SS} – volumen distribucije v ravnotežju, določen z naslednjo funkcijo:

$$V_{SS} = \frac{t_{1/2} \cdot Cl}{0,693} \quad (\text{Enačba 2.18})$$

Izraz $\frac{0,693}{t_{1/2}}$ je eliminacijska konstanta zdravila.

Ravnotežna minimalna plazemska koncentracija zdravila (koncentracija tik pred naslednjo dozo), $C_{SS,\min}$, pa je določena z enačbo 2.19:

$$C_{SS,\min} = \frac{\frac{F \cdot doza}{V_{SS}}}{1 - e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T}} \cdot e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T} \quad (\text{Enačba 2.19})$$

Razlika med obema koncentracijama, ΔC_{SS} , je (izvedeno iz enačb 2.17 in 2.19):

$$\Delta C_{SS} = \frac{\frac{F \cdot doza}{V_{SS}}}{1 - e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T}} - \frac{\frac{F \cdot doza}{V_{SS}}}{1 - e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T}} \cdot e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T} = \frac{\frac{F \cdot doza}{V_{SS}}}{1 - e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T}} \left(1 - e^{-\frac{0,693}{t_{1/2}} \cdot T} \right) \quad (\text{Enačba 2.20})$$

Nihanje koncentracije je najbolj odvisno od intervala med dozami in od $t_{1/2}$ zdravila.

Povedano je že bilo, da za dosego ravnotežne koncentracije zdravila v plazmi potrebnih 3 – 5 $t_{1/2}$. Pri zdravilih z dolgim $t_{1/2}$ uporabljamo shemo doziranja s tako imenovano polnilno dozo, kjer začnemo zdravljenje z visoko dozo, kar nam skrajša čas, ko je dosežena zelena koncentracija zdravila v plazmi.

3. OSNOVE TOKSIKOLOGIJE

OPREDELITEV TOKSIKOLOGIJE

Toksikologija (gr.: toksikon - pomeni strup, ki ga uporabimo na puščici) je veda, ki preučuje škodljive učinke kemikalij na biološke sisteme. Začetki toksikologije so povezani z uporabo naravnih strupov ali toksinov že v času pred antiko. Izraz strup predstavlja kvantitavni koncept, ki ga je postavil Paracelsus (1493-1541) z izjavo: "Vse je strup in nič ni neškodljivo, samo odmerek loči zdravilo od strupa." S to izjavo je postavil tudi temelj toksikologije kot znanstvene vede. Strup je lahko katerakoli snov, ki škodljivo vpliva na organizem. Za strupene snovi, ki so danes na tržišču in imajo oznako mrtvaške glave na embalaži, je postavljena mejna vrednost oz. kriterij, ki jih opredeljuje. Če gre za zaužitje, mora snov, ki je označena kot strup, povzročiti smrt pri polovici poskusnih živali pri odmerku ≤ 300 mg/kg telesne teže.

Zastrupitev ali intoksikacija je lahko nenamerna (akcidentna) ali namerna (suicidna, homocidna oz. kriminalna) zastrupitev ne glede na vrsto strupa. Mnoge zastrupitve potekajo dokaj tipično v obliki t.i. toksikoloških sindromov (toksindromov) po Mofensenu (tabela 1). Blage in zelo hude zastrupitve lahko potekajo atipično in pomenijo resen diagnostičen problem. Nekatere zastrupitve pa lahko skoraj popolnoma posnemajo določena internistična in nevrološka obolenja oziroma njihove bolezenske simptome in znake (akutna jetrna odpoved, komatozna stanja, pljučni edem, ipd.).

Pri zdravilih pa moramo ločiti predvsem med pojmom predoziranje in škodljivi neželeni učinki zdravil (NUZ). Predoziranje je nenamerna, zmotna prekoračitev terapevtskega odmerka zdravil, ki se kaže s toksikološko simptomatiko. NUZ so po opredelitvi Svetovne zdravstvene organizacije tisti škodljivi učinki zdravil, ki so bila dana lege artis – t.j.: 1) v pravem odmerku; 2) na pravilen način; 3) upoštevajoč pravo indikacijo ter vse kontraindikacije. S toksikologijo pa se pri zdravilih srečamo tudi v neklinični fazi razvoja novega zdravila.

Toksikologija je kot multidisciplinarna veda razdeljena na različna področja. Klinična toksikologija obravnava zastrupitve pri ljudeh. Pri zastrupitvah na delovnem mestu se vključi industrijska oziroma poklicna toksikologija. Ta se ukvarja tudi s kroničnimi učinki, kot je

rakotvornost. Če gre za izpostavljenost človeka preko okolja (voda, zrak, tla) snovem kot so npr. pesticidi, pa gre za okoljsko toksikologijo. Druga delitev toksikologije je na eksperimentalno in epidemiološko, ki se med seboj dopolnjujeta. Pri eksperimentalni toksikologiji, ki jo izvajamo na poskusnih živalih, so jasno določeni parametri kot so preskusna in kontrolna skupina, pot izpostavljenosti (zaužitje, vdihavanje, absorpcija preko kože) in odmerek. Po drugi strani pa je lahko med človekom in preskusnimi živalmi bistvena razlika v fiziologiji, anatomiji, farmakokinetiki in farmakodinamiki, kar otežuje prenos rezultatov iz živali na človeka. Zato si pomagamo z varnostnimi faktorji. Epidemiologija pa preučuje samega človeka, razmere izpostavljenosti so sicer slabo definirane, a odgovarjajo resničnemu scenariju. Obstajajo pa še razne druga področja in razdelitev toksikologije (npr. toksikologija tarčnih organov, molekularna in celična toksikologija, rakotvornost, ekotoksikologija, regulatorna toksikologija itd.).

Tabela 1: Nekateri toksindromi (povzeto po seminarju iz Klinične toksikologije; CZ KCLJ)

TOKSIČNA SNOV	SIMPTOMI IN ZNAKI
ANTIHO LINERGIKI (atropin in derivati, triciklični antidepresivi, fenotiazini, antihistaminiki)	tahikardija, midriaza, rdeča in suha koža, hipertermija, delirij, psihoza, hipertenzija/hipotenzija, konvulzije, koma
SIMPATIKOMIMETIKI	tahikardija, hipertenzija, znojenje, hipertermija, hiperaktivnost, midriaza, tremor, delirij, konvulzije, psihoza
OPIOIDI	mioza, bradikardija, hipotenzija, bradipneja, hipotermija, euforia, hiporefleksija, hypoventilacija, koma

TOKSIČNA SNOV	SIMPTOMI IN ZNAKI
ORGANOFOSFORNI INSEKTICIDI	mioza, motnje vida, hipersalivacija, hiperlakrimacija, hiperbronhosekrecija, bronhospazem, znojenje, abdominalni krči, driska, polakisurija, bradikardija/tahikardija, tahipneja, zmedenost, motnje zavesti do kome, acidoza
BARBITURATI, SEDATIVI	hipotenzija, bradipneja, apneja, zmedenost, motnje zavesti do kome, midriaza/mioza, nistagmus, hiporefleksija, kožne bulozne spremembe
SALICILATI	hiperventilacija, bruhanje, hipertermija, letargija, tinitus, delirij, sopor, koma, krvavitev, acidoza

Izpostavljenosti

Kemikalija ima škodljiv učinek, če doseže ciljno mesto v ustrezni koncentraciji in je trajanje izpostavljenosti ustrezno dolgo.

Izpostavljenost glede na trajanje in frekvenco:

- enkratna: akutna
- ponavljajoča se: subakutna, subkronična, kronična.

Za eno in isto kemikalijo je lahko toksičen učinek po enkratni izpostavljenosti različen od toksičnega učinka po ponavljajoči se izpostavljenosti (kronična izpostavljenosti majhnemu odmerku). Primer je benzen: enkratna izpostavljenost – depresija CZS; ponavljajoča se

izpostavljenosti - levkemija. Pri današnjih varnostnih standardih je največja pozornost namenjena kroničnim učinkom.

Tabela 2: Trajanje in frekvenca izpostavljenosti.

Izpostavljenost / FREKVENCA	TRAJANJE poskusne živali	TRAJANJE človek (slabše definirano)*
<u>akutna</u> / ENKRATEN ODMEREK	do 24 ur	enkratni vnos ali epizoda
<u>subakutna</u> / PONAVLJAJOČI SE ODMEREK	do 1 meseca	
<u>subkronična</u> / PONAVLJAJOČI SE ODMEREK	nekaj mesecev	nekaj tednov – nekaj mesecev
<u>kronična</u> / PONAVLJAJOČI SE ODMEREK	celo življenjsko obdobje	nekaj mesecev – nekaj let

*nenamerna izpostavljenost človeka preko okolja, kot potrošnika in na delovnem mestu

Biomarkerji v toksikologiji

Pri oceni izpostavljenosti kemikalijam in oceni toksičnih učinkov si pomagamo z različnimi biomarkerji. Uporabo biomarkerjev pri oceni izpostavljenosti imenujemo biomonitoring.

Ločimo tri osnovne skupine biomarkerjev:

- markerji izpostavljenosti

je sama spojina ali njen metabolit, ki ga merimo v telesu (kri) ali po njegovem izločanju iz telesa (urin, solze,...). Npr. svinec v krvi.

- markerji toksičnega odziva

kvantitativna sprememba v telesu, iz katere sklepamo na izpostavljenost in na učinek na zdravje. Npr. neplodnost pri moških pri izpostavljenosti anorganskemu svincu.

- markerji občutljivosti

so pokazatelji naravnih značilnosti organizma, zaradi katerih je odziv na izpostavljenost kemikaliji bolj občutljiv. Pomagajo določiti, katere značilnosti so bolj občutljive in določiti čas, ko je izpostavljenost najbolj škodljiva. Pri astmatikih vrednost forsiranega ekspiracijskega volumna v prvi sekundi izdiha (FEV₁; To je volumen zraka, ki ga izdihnete na vso moč v prvi sekundi izdiha. Ta vrednost je zmanjšana pri zožanih dihalnih poteh.) pomaga oceniti občutljivost posameznika na brevetoksin (toksična snov, ki nastane med cvetenjem morske alge *Karenia brevis*).

ODNOS MED ODMERKOM IN TOKSIČNIM UČINKOM

Kadar je toksičen učinek odvisen od odmerka lahko meritve izvajamo na dva načina:

- obravnavamo celotno populacijo (odgovor vse ali nič)
- obravnavamo odziv pri posamezniku (postopen odziv)

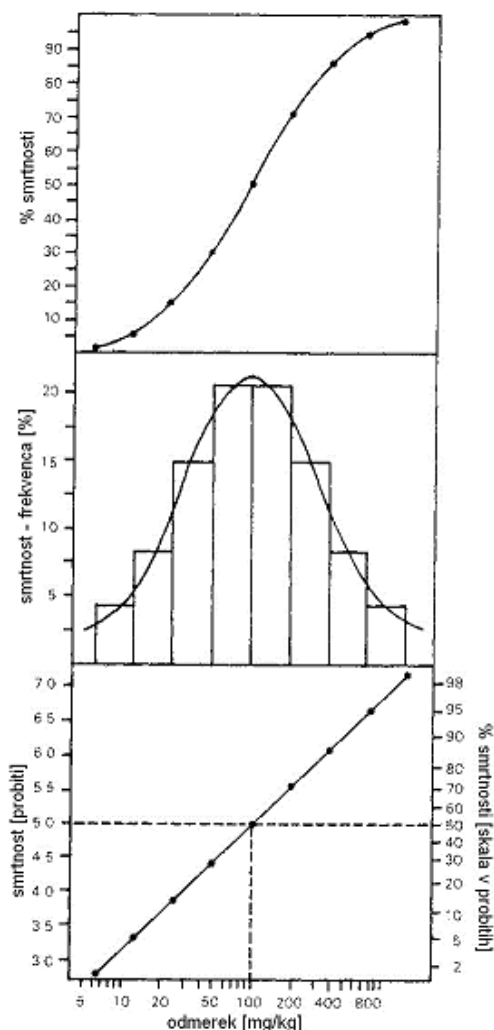
Kriteriji za toksičen učinek so različni:

- Letalnost – velika variabilnost, ker je končni učinek odvisen od mnogih procesov. Preskusi na živalih, ki vključujejo letalnost kot kriterij, se ukinjajo.
- Biokemični, fiziološki in patološki učinki kot kriteriji za toksičnost so bolj natančni.

Odgovor vse ali nič

- **LD₅₀ (angl.: lethal dose)**

Je parameter, ki ga uporabljamo za akutno toksičnost (slika 1). LD₅₀ [mg/kg telesne teže] je odmerek, ki povzroči smrt pri 50 % izpostavljenih osebkov. LC₅₀ uporabljamo pri vdihavanju. Testiranje na živalih za določanje LD₅₀ pri zaužitju je ukinjeno.



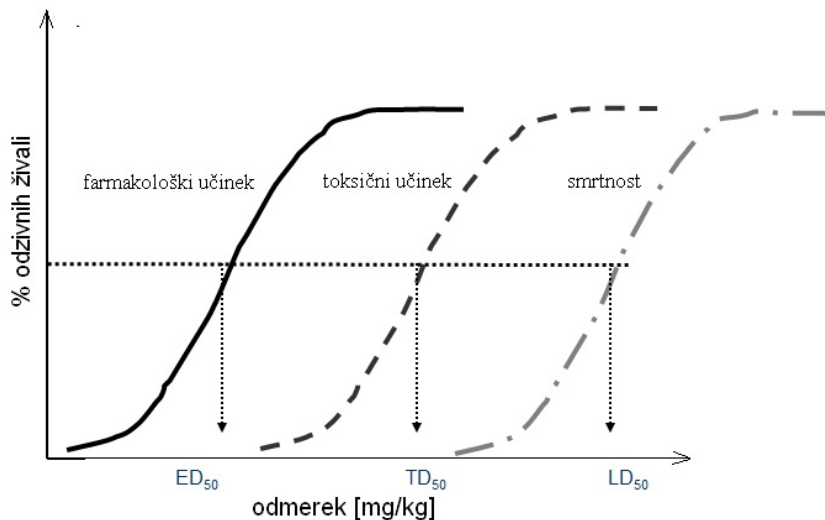
Slika 1: Grafični prikaz LD₅₀. Na abscisni osi je za odmerek logaritemska skala. Na ordinatni osi je smrtnost izražena na tri načine: pri zgornjem grafu je smrtnost v procentih, pri srednjem grafu je frekvenca smrtnosti in pri spodnjem grafu je smrtnost v probitih (probit, angl. *probability unit*). Analizo probit uporabljamo pri preučevanju vplivov, ki imajo le 2 različni vrednosti. V primeru LD₅₀ je to živ ali mrtev. Če kumulativo frekvenc nanašamo nad spremenljivko "z", dobimo sigmoidno krivuljo. Če transformiramo ordinatno skalo s pomočjo normalnega fraktila, se sigmoidna krivulja preoblikuje v premico. Če operiramo z negativnimi števili, tem vrednostim prištejemo 5, da dobimo pozitivno število.

- **TD₅₀ (angl.: toxic dose)**

TD₅₀ [mg/kg telesne teže] je odmerek, ki povzroči toksičen odziv pri 50 % izpostavljenih osebkov. Toksični odziv moramo opredeliti in ne sme biti smrtnost (letalnost).

- **TI (angl.: therapeutic index) = LD_{50} / ED_{50} (TD_{50} / ED_{50})**

V najširšem smislu terapevtski indeks predstavlja razmerje med odmerkom, ki izzove smrt in odmerkom, ki izzove zaželen farmakološki učinek. Pri sedanjih varnostnih kriterijih je uporaben predvsem pri predoziranju.



Slika 2: Graf predstavlja primerjavo med odnosom vse ali nič za farmakološki učinek (ED; npr. anestezija), toksični učinek (TD; npr. poškodba jeter) in letalni odmerek (LD).

Postopen odgovor

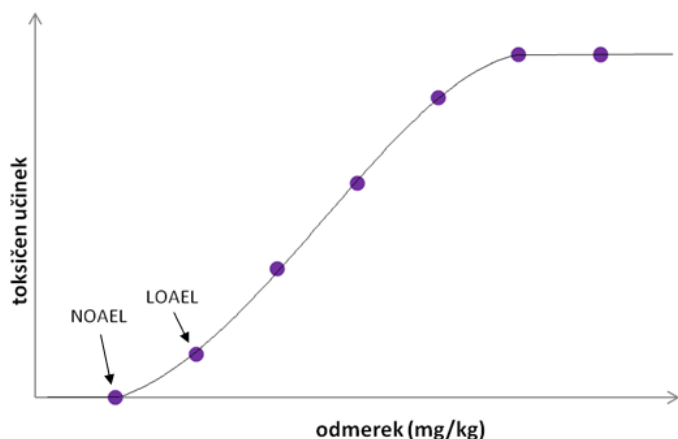
NO(A)EL (angl.: No Observed (Adverse) Effect Level)

Je parameter, ki ga uporabljamo pri ponavljajočih se odmerkih. NO(A)EL [mg/kg telesne teže/dan] je najvišji testni odmerek, pri kateri nismo opazili nobenih (negativnih) učinkov.

LO(A)EL (angl.: Low Observed (Adverse) Effect Level)

Je parameter, ki ga uporabljamo pri ponavljajočih se odmerkih, če ni na voljo NOAEL.

LO(A)EL [mg/kg telesne teže/dan] je najnižji testni odmerek, pri kateri smo opazili (negativen) učinek.



Slika 3: Grafični prikaz odnosa med koncentracijo kemikalije in toksičnim učinkom z NOAEL in LOAEL.

PESTICIDI

Pesticid je vsaka spojina ali zmes različnih spojin, ki je namenjena preprečevanju, uničevanju, odvrčanju ali zmanjšanju škode, ki jo povzroča neželeni organizem. Uporabnik nikoli ne prihaja v stik s čistimi aktivnimi snovmi, ampak z različno formuliranimi pripravki, ki se jih prodaja pod komercialnim imenom. Pripravki so sestavljeni iz aktivne snovi (ene ali več), pomožnih snovi (polnila, stabilizatorji, ...) in nečistoč. Včasih je lahko nečistoča ali pomožna snov bolj toksična kot aktivna snov. V zvezi s pesticidi želimo doseči selektivno toksičnost. To pomeni, da mora biti pesticid toksičen za ciljno skupino organizmov in netoksičen za človeka. Torej morajo izkoristiti neko posebno metabolno, biološko (rodenticidi: podgane ne morejo bruhati) ali drugo lastnost ciljnega organizma. Absolutna selektivnost pa je izredno redka. Pesticide delimo glede na ciljno skupino organizmov, ki jih uničujejo (tabela 3).

Tabela 3: Razdelitev pesticidov glede na ciljno skupino, ki jo uničujejo

<i>Ciljna skupina organizmov</i>	<i>Skupina pesticidov</i>
Glive	fungicidi
Žuželke	insekticidi
Pršice	akaracidi

<i>Ciljna skupina organizmov</i>	<i>Skupina pesticidov</i>
Pleveli	herbicidi
Drevje	arbocidi
Nematodi	nematocidi
Polži	limacidi
Glodalci	rodenticidi

Glede na področje uporabe delimo pesticide na *fitofarmaceutska sredstva* (uporaba v kmetijstvu za zaščito rastlin, ki jih gojimo za prehrano, krmo ali v okrasne namene) in *biocide* (uporaba v zaprtih prostorih; npr. razkužila, sredstva za konzerviranje).

MEHANIZEM DELOVANJA IN ZNAKI ZASTRUPITVE TER NAČELA ZDRAVLJENJA PRI POSAMEZNIH SKUPINAH PESTICIDOV

Insekticidi

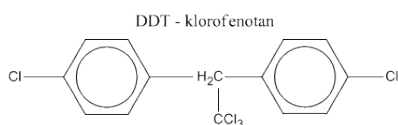
Insekticidi so *nevrotoksični*. Osnovni mehanizem delovanja je enak za sesalce in žuželke.

Na CZS delujejo ekscitatorno.

Organoklorni insekticidi

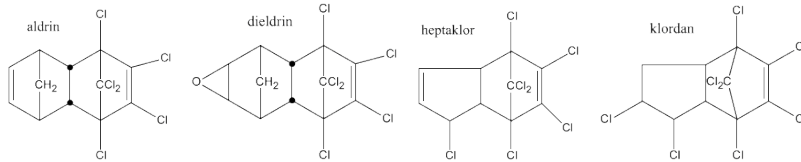
Organoklorni insekticidi so kemijsko klorirani ogljikovodiki, kovalentno imajo vezanega enega ali več klorovih atomov na alkilnem ali cikličnem ogrodju ogljikovodikov. Razdeljeni so v tri skupine:

- KLORIRANI DERIVATI ETANA (npr.: DDT)



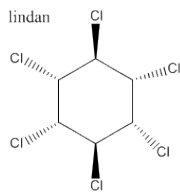
Slika 4: Strukturna formula DDT-ja

- CIKLODIENI (npr.: aldrin, dieldrin, heptaklor, endrin)



Slika 5: Strukturne formule nekaterih ciklodienov

- HEKSAKLOOROCIKLOHEKSANI (npr.: lindan)



Slika 6: Strukturna formula lindana

V štiridesetih letih prejšnjega stoletja so DDT široko uporabljali za zatiranje malarije v Afriki in na drugih epidemičnih območjih, saj je bil cenovno najbolj ugoden in učinkovit sintetični insekticid tistega časa. Danes je uporaba organoklorovih insekticidov močno omejena. Z Stockholmsko konvencijo iz leta 2004 je omejena uporaba DDT-ja ter prepovedana aldrina, dieldrina, heptaklora, mireksa, klordekona in klordana. Lindan je pri nas prepovedan z Rotterdamsko konvencijo, vendar je v nekaterih državah še dovoljen, a je uporaba omejena (npr. ZDA).

Mehanizem delovanja: mehanizem delovanja DDT-ja na CŽS ni povsem poznan. Je modulator Na^+ kanalov na membrani aksona, in sicer prepreči njihovo zaprtje. S tem podaljša depolarizacijo in tako omogoči proženje zaporednih akcijskih potencialov na enem aksonu po enem samem dražljaju, kar vodi v tremor (T-sindrom). Ostali mehanizmi so blokada K^+ kanalov, zaviranje Na^+/K^+ -ATP-aze in sproščanja acetiholina (ACh). Ciklodieni in heksaklorocikloheksani so kompetitivni antagonisti ionotropnih GABA receptorjev, zmanjša se prepustnost Cl^- kanalov, sledi le delna repolarizacija. Zmanjšajo postsinaptično inhibitorno

delovanje GABA. Poleg tega zavirajo $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP-azo in tako zvišajo koncentracijo Ca^{2+} v celici, posledica česar je sproščanje ACh.

Farmakokinetika: organoklorni insekticidi so lipidofilni. Dobro se absorbirajo pri zaužitju, v stiku s kožo in pri vdihavanju, prehajajo tudi skozi posteljico. Majhni odmerki DDT-ja, kloriranih ciklodienov in lindana inducirajo citohrom P450 v hepatocitih in s tem vplivajo na metabolizem steroidnih hormonov (predvsem estrogena) in zdravil. Metabolizem je počasen. Izločijo se predvsem s fecesom. V telesu se ob daljši izpostavljenosti kopičijo v maščobnem tkivu, CŽS in materinem mleku.

Akutna toksičnost: ciklodieni in lindan lahko pri akutnih zastrupitvah pri človeku povzročijo smrt. Po strupenost pri zaužitju pri poskusnih živalih so si zelo različni:

- Strupena pri zaužitju: lindan ($\text{LD}_{50} = 88 \text{ mg/kg}$); DDT ($\text{LD}_{50} = 250 \text{ mg/kg}$).
- Ni strupen pri zaužitju: metoksiklor ($\text{LD}_{50} = 6000 \text{ mg/kg}$).

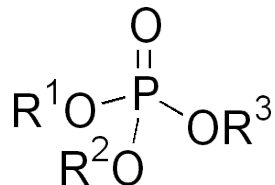
Simptomi in znaki zastrupitve: prvi simptomi in znaki se pojavijo od 45 min do več ur po zaužitju. Kažejo se kot nevrološke motnje: pareze obraznih mišic in jezika, omotičnost, ataksija, tremor in v resnih primerih napredujejo v stupor, koma ter konvulzije. Lahko nastopijo vedenjske spremembe kot je zaskrbljenost in razdražljivost. Izpostavljenost velikim količinam DDT-ja vodi v motnje srčnega ritma, respiratorno odpoved in smrt. Zastrupitev s ciklodieni se kaže kot nenadni epileptiformni napad.

Zdravljenje: zdravljenje je simptomatsko, predvsem dajemo kisik, konvulzije pa kontroliramo z benzodiazepini. Absorpcijo iz GIT zmanjšujemo z aktivnim ogljem. Protistrupa ni.

Kronična toksičnost: zaradi kopičenja v telesu so kronični učinki pogostejši kot akutni. Tarčni organi so živčevje (npr. polinevritis), kri (npr. anemija, agranulocitoza) in kardiovaskularni sistem (npr. tahikardija preko delovanja na CŽS, sklerotične in distrofične poškodbe miokarda). Njihovi predstavniki so na listi motilcev hormonskega ravnotežja. Metoksiklor zmanjša število spermijev. Po IARC-ovi lestvici (International Agency of Research on Cancer) spadajo lindan, DDT, klordan, heptaklor v skupino 2b (možni kancerogeni za človeka). Dokazi, da DDT povzroča neoplazije limfatičnega sistema, CŽS, pljuč, jeter in dojke pri človeku so zaenkrat nezadostni ali pa so nekonsistentni.

Organofosforni insekticidi

Prvo organofosforno spojine so razvili v Nemčiji med 2. svetovno vojno, in sicer je bil to tetraetil pirofosfat (TEPP), ki je zamenjal insekticid nikotin. Kmalu zatem so sintetizirali dimefoks, sarin, tabun in paration.



Slika 7: Osnovna strukturna formula organofosfornih pesticidov

Mehanizem delovanja: organofosfati ireverzibilno zavirajo acetilholinesterazo (AChE) in tako povzročijo kopičenje ACh, ki je agonist muskarinskih in nikotinskih receptorjev. Po začetni stimulaciji pride do blokade živčno-mišičnega prenosa in ohlapne ohromelosti. GABA in dopamin kot inhibitorna prenašalca v CŽS omogočata začasno kompenzacijo ekscitatornih učinkov ACh. Glavna mesta delovanja ACh so: postganglijske sinapse parasimpatika, motorične ploščice skeletnih mišic, avtonomni gangliji ter CŽS.

Farmakokinetika: organofosfati so lipidotopni, dobro se absorbirajo pri zaužitju, v stiku s kožo in pri vdihavanju. Metabolizem poteka s pomočjo citohroma P450. Nekateri metaboliti so bolj toksični kot izhodna snov. Večinoma se izločajo v urinu kot produkti hidrolize.

Akutna toksičnost: večinoma so predvsem akutno toksični. Po strupenosti pri zaužitju jih delimo na:

- *malo toksične:* bromofos, malation ($LD_{50} > 1000 \text{ mg/kg}$)
- *zmerno toksične:* diazinon, kvinalfos, diklorvos, dimetoat ($LD_{50} = 50 - 1000 \text{ mg/kg}$)
- *zelo toksične:* paration, (bojni strupi: soman, sarin, VX) ($LD_{50} < 50 \text{ mg/kg}$)

Toksično lahko dodatno deluje tudi organsko topilo (toluen, ksilen), v katerem je raztopljen aktivna snov.

Simptomi in znaki zastrupitve: razvijejo se nekaj ur po akutni izpostavljenosti. Pri zaužitju velikih količin se lahko pojavijo že po 5 min. Včasih začetnim neizrazitim simptomom sledi holinergična kriza šele po 48 urah. Nevrološki simptomi so odvisni od ravnotežja med učinki na muskarinskih in nikotinskih receptorjih ter od vpletenosti CŽS. Čepprav je mioza najbolj stalen znak, pa njena odsotnost ne izključuje zastrupitve z organofosfati.

- **Akutni:** spodbujanje muskarinskih receptorjev se kaže kot slabost, bruhanje, driska, znojenje, slinjenje, čezmerno izločanje bronhialne sluzi, bronhospazem, mioza, bradikardija in abdominalne kolike. Za znake prekomernega delovanja holinergičnega sistema uporabljamo kratico DUMBELS (angl.: Diarrhea, Urination, Miosis, Bronchospasm, Emesis, Lacrimation, Salivation). Spodbujanje nikotinskih receptorjev povzroča mišične fascikulacije, tremor, v hujših primerih tudi paralizo mišic. Klinično je pomembna paraliza dihalnih mišic, ki ob bronhialni hipersekreciji in bronhospazmu vodi v hudo dihalno stisko. Spodbujanje receptorjev CŽS povzroča sprva agitacijo in konvulzije, v hujših primerih komo in zastoj dihanja ter srca.
- **Subakutni:** ko znaki akutne zastrupitve že izzvenijo, se lahko pojavijo znaki periferne polinevropatije, ki pa niso posledica zaviranja AChE, ampak nevrotoksične esteraze. Za periferno nevropatijo je značilna ohlapna ohromelost z mišično šibkostjo, zmanjšanjem kitnih refleksov in občutljivostjo na dotik. Ko simptomi periferne polinevropatije izzvenije, se pojavi približno 6 mesecev po akutni izpostavljenosti spastična ohromelost. Zanj so značilni hiperaktivni kitni refleksi in atrofija mišic, Razvije se kot posledica poškodbe motonevrona iz piramidne poti in je bila prej zaradi periferne nevropatije prikrita . Okrevanje po več letih ni vedno popolno.

Diagnoza: zastrupitev potrdimo z anamnestičnimi podatki in razmeroma tipično klinično sliko. Večinoma imajo značilen grenkoben vonj. Najzanesljivejši dokaz zastrupitve je znižanje aktivnosti AChE v eritrocitih za več kot 25 %. V eritrocitih in živčnem sistemu je encim enak. Obstaja tudi plazemska (pseudo) holinesteraza, za katero pa je značilno veliko nihanje tekom dneva, aktivnost se hitro zmanjša in hitro obnovi in je zato manj primerna za dokazovanje zastrupitve.

Zdravljenje: Zastrupljenca moramo kar se da hitro umakniti iz kontaminiranega prostora. Nato poskrbimo za odstranitev obleke in spiranje strupa s površine telesa. Pomembno je vzdrževanje prostih dihalnih poti in podpora dihanja s kisikom ter nadzorovanje ostalih vitalnih

funkcij. Protistrup je *atropin*, ki je antagonist muskarinskih receptorjev. Na nivoju živčnomišičnega stika, kjer je nikotinski receptor, atropin ne ublaži paralize. Ravno tako ne prepreči dihalne odpovedi. Za reaktivacijo AChE dajemo *pralidoksim* in *obidoksim*. Učinkujeta na mišično šibkost, fascikulacije in motnjo zavesti. Zdravljenje z njima pa lahko traja več dni, zlasti pri zastrupitvi z bolj lipofilnimi oblikami organofosfatov.

Karbamatni insekticidi

Mehanizem delovanja: osnovno delovanje je enako kot pri organofosfatih, le da karbamati kratkotrajno in reverzibilno zavirajo AChE.

Primeri karbamatnih insekticidov: aldikarb, karbaril, primikarb, propoksur ipd.

Farmakokinetika: krvnomožgansko pregrado slabo prehajajo in slabše se absorbirajo skozi kožo kot organofosfati.

Simptomi in znaki zastrupitve: klinična slika je podobna blažji zastrupitvi z organofosfati, pojavi se že 30 minut do 2 uri po zaužitju. Sprva nekoliko znižana aktivnost plazemske AChE se hitro normalizira, medtem ko je pri zastrupitvi z organofosfornimi insekticidi lahko znižana več dni ali celo tednov. Znaki zastrupitve pa so lahko kljub normalni aktivnosti AChE še prisotni.

Zdravljenje: zastrupitev zdravimo z *atropinom*.

Piretrini in piretroidi

Piretrini so naravni insekticidi, pridobljeni iz krizantem (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Zaradi njihove slabe obstojnosti in široke potrošnje se že nekaj časa uporabljajo predvsem sintetični analogi imenovani piretroidi, ki so bolj obstojni, vendar tudi bolj strupeni. Uporabljajo se v obliki aerosolov v razpršilcih, zato je tudi pot zastrupitve najpogosteje z vdihavanjem. So pogosta komponenta "hišnih" insekticidov (biocidi). Zamenjali so organofosforne insekticide, ker so manj akutno toksični.

Mehanizem delovanja: piretroidi tipa I delujejo enako kot DDT. So modulator Na^+ kanalov na membrani aksona, in sicer prepreči njihovo zaprtje. S tem podaljšajo depolarizacijo in tako omogoči proženje zaporednih akcijskih potencialov na enem aksonu po enem samem dražljaju, kar vodi v tremor (T-sindrom). Piretroidi tipa II (imajo ciano skupino) so tudi modulatorji Na^+ kanalov; v primerjavi s tipom I, še bolj podaljšajo njihovo odprtost. S tem omogočijo dolgotrajno depolarizacijo z blokado prevajanja dražljajev kar vodi v horeoatetozo. Pri visokih koncentracijah naj bi delovali tudi kot antagonisti GABA receptorjev.

Farmakokinetika: absorbirajo se pri zaužitju, z vdihavanjem prahu in razpršene meglice, v manjši meri tudi v stiku s kožo. Porazdelijo se po vsem telesu vključno z možgani. Izločijo se z žolčem in urinom.

Selektivna toksičnost: piretroidi so mnogo bolj toksični za insekte kot za sesalce zaradi razlik v natrijevih kanalčkih med vrstami. Poleg tega so sesalci zmožni hitre biotransformacije piretroidov z estersko hidrolizo in/ali hidroksilacijo. Za razliko od sesalcev so vodni organizmi izrazito občutljivi na piretrine.

Toksičnost: Piretrini in piretroidi se smatrajo za zmerno toksične. Piretrini so izraziti alergeni v primerjavi z drugimi insekticidi. Pri astmatikih in drugih atopikih lahko povzročijo preobčutljivostno reakcijo. Ta se pri vdihavanju piretrinov lahko kaže kot lokalno draženje kože, oči in sluznic zgornjih dihal, pa tudi spodnjih dihal: kašljanje, dispneja, bolečina v prsih, napad podoben astmatičnemu. Obstaja navzkrižna reaktivnost pri ljudeh, ki so alergični na žvrkljo (plevel, ki raste predvsem v vzhodni in južni Sloveniji; žvrklje in krizanteme so v isti botanični skupini). Za razliko od piretrinov, piretroidi ne povzročajo alergijskih reakcij.

Simptomi in znaki zastrupitve: po zaužitju večje količine piretroidov se pojavijo: slabost, bruhanje, driska, parestezije, glavobol in omotica, v hujših primerih pa zaradi prizadetosti živčnega sistema (vpliv na GABA receptorje) tudi nemir, tremor, ataksija, konvulzije, nezavest in depresija dihanja.

Zdravljenje: zdravljenje je simptomatsko. V primeru stika s kožo in sluznicami se opravi lokalna dekontaminacija. Pri zaužitju uporabimo aktivno oglje in odvajalo. Želodec izpiramo le v primeru zaužitja večje količine koncentriranega pripravka.

Kronična toksičnost: pri kronični izpostavljenosti piretrinom se lahko pojavi preobčutljivostni pnevmonitis. Nekateri piretroidi so na listi motilcev hormonskega ravnotežja, vendar njihove učinke še preučujejo. Ravno tako pa je sporna nevrotoksičnost nekaterih predstavnikov.

Herbicidi

Selektivni herbicidi delujejo na določeno rastlinsko vrsto in so za ostale relativno neškodljivi, uporabljajo se predvsem v kmetijstvu in na domačih vrtov. Neselektivni herbicidi so v uporabi za čiščenje industrijskih območij, železniških prog ipd. Kontaktni herbicidi uničijo le tisti del rastline, na katerega ga nanese, medtem ko se sistemski absorbirajo preko korenin ali listov in se po žilnem sistemu razporedijo po rastlini. Glede na mesto delovanja na rastlini ločimo več skupin: 1) inhibitorji sinteze aminokislin; 2) inhibitorji sinteze lipidov, 3) regulatorje rasti; 4) inhibitorji fotosinteze; 5) inhibitorji pigmentov; itd. Herbicidi so za človeka različno toksični. V strokovni javnosti skrb zaradi toksičnosti herbicidov narašča zaradi vse več primerov pronicanja teh spojin v podtalnico.

Derivati fenoksiocetne kisline

- 2, 4- D (2, 4- diklorofenoksiocetna kislina) je bil eden prvih znanih herbicidov in je v širši uporabi pri gojenju žita še danes. Posnema rastlinski rastni hormon auksin, povzroči nekontrolirano rast in odmrtnje rastline.
- 2, 4, 5- T (2, 4, 5-triklorofenoksiocetna kislina) je malo toksičen, vendar je bila uporaba ukinjena zaradi kontaminacije z 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksinom (TCDD), do katere pride med proizvodnjo. TCDD je kancerogen, teratogen, imunotoksičen in hepatotoksičen.

2,4 – D:

Mehanizem delovanja: poruši strukturo in funkcijo celične membrane; moti celični metabolizem; je odklopnik oksidativne fosforilacije. Strukturno je podoben očetni kislini in je sposoben tvoriti analog acetil-koencima A. Acetil-koencim A je vpleten v metabolizem glukoze in v sintezo holesterola, steroidnih hormonov in ACh. Motnje teh poti so v skladu z

mnogimi toksičnimi učinki, ki so jih opazili pri sesalcih, npr. spremenjen profil holesterola, miotonija, srčne aritmije, mišični krči, imunotoksičnost in nevrotoksičnost. Ugotovili so tudi, da povzroča apoptozo.

Farmakokinetika: dobro se absorbira pri zaužitju, slabše skozi kožo in pri vdihavanju. Veže se na serumski albumin. Izloči se večinoma nespremenjen z urinom.

Akutna toksičnost: strupenost pri zaužitju, LD₅₀ (podgane) = 639 mg/kg.

Simptomi in znaki zastrupitve: draži oči in kožo (ne v obliki estrov). Povzroča slabost, šibkost, utrujenost, glavobol in v nekaterih primerih nevrotoksičnost vključno z vnetjem živčnih končičev. Lahko pride do poškodb skeletnih mišic in odpovedi ledvic. Opazili so tudi vedenjske motnje (zmedenost, agresivnost).

Zdravljenje: simptomatsko.

Kronična toksičnost: ni trdnih dokazov, vendar ga povezujejo z ne-Hodgkinovimi limfomi in amiotrofično lateralno sklerozo (degenerativna bolezen motoričnih nevronov pri delavcih v fitofarmaceutskih tovarnah. IARC (2008) 2,4-D ni razvrstil kot za človeka rakotvorno snov. Obstaja zaskrbljenost, da deluje kot motilec hormonskega ravnotežja, predvsem zaradi učinkov na ščitnico.

Derivati bipiridila

Najpomembnejši predstavnik je parakvat. Je neselektivni herbicid. Zaradi akutne toksičnosti je njegova uporaba v Slovenije prepovedana. Parakvat v rastlini veže proste elektrone, ki nastanejo med fotosintezo v klorofilu. Pri tem nastanejo prosti kisikovi radikali, ki poškodujejo celično membrano.

Mehanizem delovanja: glavni tarčni organ parakvata so pljuča. Alveolarne epiteljske celice tipa I in II imajo na svoji membrani specifični transporterje za beljakovino spermin, ki je po strukturi in velikosti podobna parakvatu, zato lahko prehaja v omenjene celice. Parakvat kot induktor nastanka prostih kisikovih radikalov (predvsem superoksidnega aniona) poškoduje celično membrano alveolarnih epiteljskih celic, čemur sledi proliferacija fibroblastov in razvoj

pljučne fibroze. Čeprav poteka privzem hitro (V_{max} je 300 nmol/g pljučnega tkiva/h), se začne proliferacija fibroblastov šele več dni po zaužitju, simptomi in smrt zaradi kardiorespiratorne odpovedi pa lahko tudi po več tednih. Čeprav ima dikvat enak mehanizem delovanja kot parakvat, je njegova afiniteta za pljučno tkivo manjša.

Farmakokinetika: pri vdihavanju se parakvat slabo absorbira, ker je premer delcev prevelik, da bi dosegli alveolarno pregrado. Zato so primeri sistemske toksičnosti zelo redki. Absorbcija skozi kožo in z zaužitjem je majhna. Ne glede na pot vnosa, so glavni tarčni organ pljuča. Nalaga se tudi v mišicah, zato lahko parakvat najdemo več tednov v krvi in urinu. Se ne razgradi, ampak se reducira v nestabilne proste radikale. Skoraj 100% se ga izloči z urinom v 24 urah.

Akutna toksičnost: parakvat je akutno najbolj toksični med herbicidi, smrtni odmerek parakvata za človeka je 4 mg/kg telesne mase. Dikvat je manj toksičen od parakvata.

Simptomi in znaki zastrupitve: pri zaužitju parakvata nastanejo jedke poškodbe prebavnega trakta, spremljajo jih bolečine v žrelu, vzdolž požiralnika in v želodcu. Povzroča slabost, bruhanje, drisko in bolečine v trebuhu (akutni gastroenteritis). Poškodbe sluznice so površinske, redkeje pride do perforacije želodca in obsežnih gastrointestinalnih krvavitev. Dva do pet dni po zaužitju lahko pride do ledvične odpovedi in hepatocelularne nekroze. Parakvat je za ledvica direktno toksičen in povzroči tubulopatijo, ki je reverzibilna. Nekroza jeter je centrilobularna in v večini primerov zmerna. Zapolnel razvoj ireverzibilne pljučne fibroze je odgovoren za slabo prognozo zastrupitve. Tudi umetna ventilacija ne upočasni tega procesa.

Zdravljenje: ukrepi morajo biti hitri. Pomembna je temeljita odstranitev strupa iz prebavil z izpiranjem želodca in črevesja in absorpcijo na aktivno oglje. Zaradi akutnega gastroenteritisa je pomembno nadomeščati tekočino. Kljub hipoksemiji se moramo izogibati dajanju kisika v visokih koncentracijah, ker lahko pospeši nastanek pljučne fibroze. Z imunosupresivnim zdravljenjem s kortikosteroidi in ciklofosfamidom lahko delno zavremo vnetje in zmanjšamo nevarnost pljučne fibroze.

Kronična toksičnost: izpostavljenosti parakvatu lahko sledi parkinsonizem. Parakvat je po kemijski strukturi podoben MPTM (metil-g-fenil-tetrahidropiridin), za katerega je znano, da povzroči parkinsonizem pri človeku.

Fosfometilne aminokisliline

Fosfometilne aminokisliline so neselektivni herbicidi s širokim spektrom delovanja. Najbolj znana predstavnika sta glifosat in glufosinat.

Glifosat

Je strukturni analog glicina in inhibitor sinteze aromatskih aminokislin, kar povzroči odmrtnje rastline.

Farmakokinetika: pri zaužitju je absorpcija majhna, skozi kožo je absorpcija zanemarljiva. Večinoma se izloči z urinom v nespremenjeni obliki.

Akutna toksičnost: ni akutno toksičen pri zaužitju LD_{50} (podgana) > 5000 mg/kg. Kljub temu so poznani smrtni primeri pri zastrupitvi. Menijo, da so razlog zanje pomožne snovi v pripravku in ne sam glifosat,

Simptomi in znaki zastrupitve: v stiku z očmi povzroči konjunktivitis, če oči ne speremo pa tudi reverzibilne poškodbe roženice. Pri zastrupitvi z nizkim odmerkom: bruhanje, slabost, driska in bolečine v ustih, žrelu in trebuhu. Pri zmerni zastrupitvi: ulceracije prebavil, hipotenzija, poškodbe jeter in ledvic. Resna zastrupitev: respiratorna in ledvična odpoved, konvulzije, koma in smrt.

Zdravljenje: simptomatsko.

Rodenticidi

Prvi rodenticid je bil strihnin, ki so ga uporabili v 16. st. v Nemčiji. Zaradi njihovega načina uporabe (v obliki vab na težko dosegljivih mestih) so manj ekološko obremenilni, vendar lahko pride do nenamernega zaužitja.

Antikoagulantni

Med antikoagulantne spadajo:

- Hidroksikumarini 1. generacije: varfarin
- Hidroksikumarini 2. generacije: brodifakum, bromadiolon, difenakum, flokumafen, ipd.
- Derivati indandionov: npr. klorofacinon.

Mehanizem delovanja: so kompetitivni inhibitorji encima *vitamin K epoksid reduktaze*, ki vitamin K epoksid reducira v njegovo aktivno obliko hidrokinona.

Farmakokinetika: dobro se absorbirajo pri zaužitju, v stiku s kožo in pri vdihavanju.

Razgradnja varfarina in indandionov poteka preko hidroksilacije. Antikoagulant 2. generacije se izločijo v nespremenjeni obliki, razen difenakum, kjer prevladujejo metaboliti. Akumulirajo se v jetrih in maščevju. Izločajo se predvsem s fecesom.

Tabela 4: Akutna toksičnost antikoagulantov pri zaužitju (pri podganah):

AKTIVNA SNOV	LD ₅₀ [mg/kg]
varfarin	58
brodifakum	0.26
bromadiolon	1.13
difenakum	1.8
flukomafen	0.46
klorofacinon	20.5

Simptomi in znaki zastrupitve: znaki se razvijejo z zakasnitvijo, in sicer en ali več dni po zastrupitvi. Simptomatsko se zastrupitev kaže v obsežnih krvavitvah (izkašljevanje krvi, krvavitev iz dlesni in nosu, kri v urinu,...), ki vodijo v hipovolemični šok.

Zdravljenje: ob skrajšanju protrombinskega časa pod 50 % je indicirano dajanje vitamina K₁ s čimer omogočimo sintezo koagulacijskih faktorjev. V nujnih primerih ga dajemo intravensko. Pri hujših krvavitvah so potrebne krvne transfuzije in dodatno nadomeščanje koagulacijskih faktorjev. Ker se indandioni in antikoagulant 2. generacije dalj časa zadržujejo v telesu, poteka tudi zdravljenje z vitaminom K₁ dalj časa.

Teratogenost varfarina: je dokazano teratogen za človeka. Učinki: aksialne in apendikularne deformacije skeleta, hipoplastičen nos, nenormalnosti oči, brahidaktilija, skolioza in nepravilnosti CZS.

Alfakloraloza

Mehanizem delovanja: je centralni depresor. Njegov metabolit kloralhidrat se uporablja v terapevtske namene kot hipnotik, čeprav njegove uporabe več ne priporočajo. Točen mehanizem delovanja ni poznan. Verjeten mehanizem je modulacija receptorjev GABA.

Farmakokinetika: hitra absorpcija pri zaužitju. Metabolizem poteka preko kloralhidrata v trikloroetilen. Prehaja čez posteljico, nahaja se tudi v materinem mleku. Izloča se z urinom in žolčem.

Akutna toksičnost: strupenost pri zaužitju, LD₅₀ (podgane) = 300-400 mg/kg.

Simptomi in znaki zastrupitve: depresija CŽS, mišične fascikulacije. Smrt nastop zaradi zastoja dihanja, hipotermije in motenj srčnega ritma. Neželeni učinki pri terapevtski uporabi kloralhidrata so bruhanje, tremor, ataksija, zmedenost ter redko levkopenija in eozinofilija.

Zdravljenje: zdravimo s kisikom, včasih je potrebna umetna ventilacija. Zaradi senzitivizacije miokarda za kateholamine je učinkovit propranolol. Nadomestiti moramo tekočino in elektrolite ob ustreznem odvajanju urina.

Aluminijev fosfid

Mehanizem: kovinski fosfidi (npr. Al, Mg, Zn) takoj reagirajo z vodo (in/ali s HCl v želodcu) da nastane plin fosfin (PH₃) (IUPAC: fosfan), ki močno draži sluznico. Fosfin je zelo reaktiven in povzroči oksidativen stres, ki vodi v različne nespecifične citotoksične učinke. S svojo vezavo inhibira različne encime vključno z encimi celičnega dihanja (npr. inhibira oksidativno fosforilacijo). Močno inhibira katalazo kar vodi v akumulacijo H₂O₂ in s tem lipidno peroksidacijo in denaturacijo proteinov celične membrane. Redko inhibira citohrom oksidazo za več kot 50%, zato klinični znaki niso podobni zastrupitvi s cianidi ali H₂S. Posledica spremenjene permeabilnosti celične membrane so spremembe v koncentraciji plazemskih elektrolitov. Spremembe EKG in aritmije so verjetno posledica spremenjenim plazemskih koncentracij K, Mg in Ca ali pa spremenjenih intracelularnih ionskih koncentracij. Povečano nastajanje prostih kisikovih radikalov lahko vodi v methemoglobinemijo. Multiorganska odpoved nastopi verjetno zaradi direktnega citotoksičnega učinka. Posledici okvare srca, pljuč in ožilja sta hipoksija in hipoperfuzija. Zaradi poškodbe prebavil in pljuč lahko pride do infekcije.

Farmakokinetika: hitra absorpcija pri zaužitju ali vdihavanju. Skozi kožo je absorpcija zanemarljivo majhna. Okoli 40% absorbiranega fosfina se izloči z urinom kot fosfit ali hipofosfit.

Akutna toksičnost: LD₅₀ (zaužitje, podgane) = 11,5 mg/kg. Zelo strupen pri vdihavanju, LC₅₀ (podgane, 4h) = 0,014 mg/L.

Simptomi in znaki zastrupitve: običajno se pojavijo v nekaj urah, vendar se stanje močno poslabša v prvih 24 ur. Lokalni gastrointestinalni učinki so retrosternalna bolečina, bruhanje, driska in abdominalne bolečine. Multiorganska odpoved z akutno srčno odpovedjo, šokom, ARDS (sindrom dihalne stiske pri odraslem), akutno ledvično in jetrna odpovedjo vodijo v smrt. Centralni učinki (krči, koma) se pojavijo samo pri resnih zastrupitvah in se lahko pojavijo sekundarno zaradi multiorganske odpovedi. Direktna toksičnost za kardiomiocite v kombinaciji z acidozo in nenormalnimi koncentracijami elektrolitov (predvsem K, Ca in Mg) vodijo v aritmije, ki so pogosto letalna komplikacija. Pojavijo se lahko bradiaritmije in tahiaritmije (atrijske in ventrikularne). Pri zastrupitvah s plinom fosfinom se pojavijo podobni simptomi kot so opisani zgoraj, le da so bolj izraziti respiratorni učinki. Izpostavljenost majhnim količinam fosfina lahko povzroči draženje nosne in očne sluznice, kašljanje, glavobol, utrujenost, slabost, bruhanje in abdominalne bolečine. Pri resni izpostavljenosti se pojavi dispneja, pljučni edem, srčne aritmije in hipotenzija.

Zdravljenje: podporno zdravljenje z intenzivno kardiovaskularno in respiratorno podporo in korekcijo elektrolitov. Dajanje kisika močno poveča toksičnost fosfina, zato ga dajemo samo močno hipoksemičnemu bolniku z zelo slabo prognozo ali paliativno. Izpiranje želodca naredimo pri bolniku, ki je zaužil potencialno toksičen odmerek. Specifičnega antidota ni. Acetilcistein je v živalskih modelih zmanjšal toksičnost. Optimalen odmerek naj bi bil podoben tistemu pri zastrupitvi s paracetamolom.

4. DELOVANJE ZDRAVIL NA OSREDNJE ŽIVČEVJE

Katarina Černe, Mojca Kržan in Lovro Žiberna

V možganih zdravila vplivajo na učinkovanje prenašalcev informacij v osrednjem živčevju. Zdravila lahko učinek prenašalcev povečajo, kadar jih je premalo (npr. ko zaradi staranja ali prekrvavitvenih motenj propadajo živčne celice, ki prenašalce izločajo), oziroma delovanje prenašalcev zmanjšajo, kadar so ti zaradi bolezni prekomerno aktivni. Zdravila lahko tudi zmanjšajo učinkovanje prenašalcev, kadar je njihovo izločanje ali učinkovanje prekomerno. Mesto delovanja večine zdravil, ki učinkujejo na osrednje živčevje, je sinapsa.

PRENAŠALCI V OSREDNJEM ŽIVČEVJU

Prenašalci informacij v osrednjem živčevju lahko učinkujejo kot nevrottransmitorji (zelo hitro milisekunde - sekunde), nevromodulatorji (počasneje sekunde – minute) ter nevrotrofični dejavniki (najpočasneje – ure – dnevi).

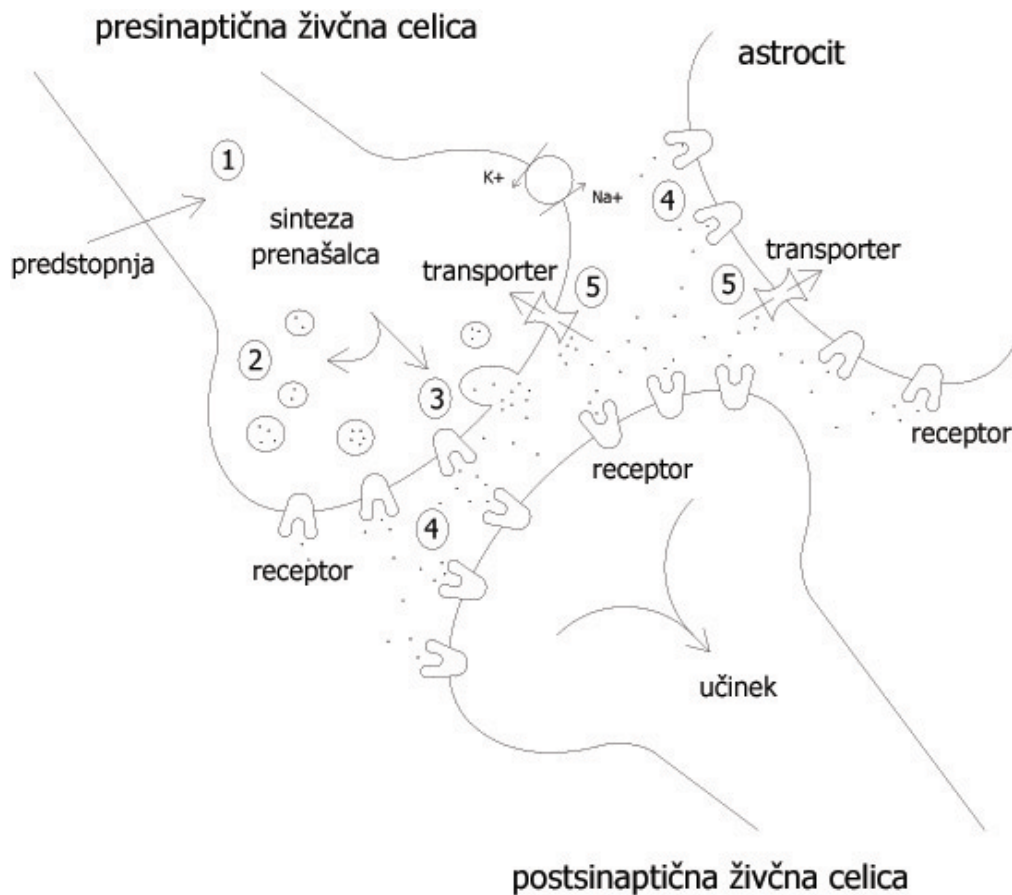
Nevrottransmitorji (npr. dopamin, acetilholin, glutamat, noradrenalin in drugi), so molekule, ki prenašajo informacije iz ene živčne celice v drugo. Prenašalci se sprostijo iz presinaptičnih živčnih celic in se vežejo na post in presinaptične receptorje, jih aktivirajo in sprožijo zaporedje kemičnih reakcij, kar se odraža z učinkom prenašalca.

Nevromodulatorji se sproščajo iz živčnih celic in iz celic glije in povzročajo počasnejše pre- in postsinaptične učinke. Iste snovi lahko učinkujejo kot nevrottransmitorji in kot nevromodulatorji (npr. serotonin, dopamin, neuropeptidi, NO).

Nevrotrofični dejavniki se sproščajo predvsem iz celic glije in preko tirozin kinaznih receptorjev, ki uravnavajo izražanje določenih genov ter nadzirajo rast in dozorevanje različnih populacij živčnih celic.

Da lahko neko snov poimenujemo prenašalec, ne sme prehajati skozi krvnomožgansko pregrado. To pregrado prestopajo predstopenjske molekule, iz katerih se v telesih živčnih celic tvori prenašalec; ta se uskladišči v vezikle, ki se nahajajo v bližini živčnih končičev (v veziklih so prisotne relativno visoke koncentracije prenašalcev, zaščiteneh pred encimsko razgradnjo).

Vzdraženje živčne celice povzroči, da se iz mešičkov v živčnih končičih sprosti prenašalec v sinaptično špranjo. Vanjo sproščeni prenašalec mora povzročiti odziv na sosednji, t. i. postsinaptični živčni celici.



Slika 4.1: Shematski prikaz dogajanj v sinapsi. (1,2) Nevrotransmiter se sintetizira in nato uskladiči v presinaptične vezikle s pomočjo vezikularnih transporterjev. (3) Sprostitev nevrotransmitorja v sinaptično špranjo. (4) Interakcija nevrotransmitorja s presinaptičnimi, postsinaptičnimi receptorji in receptorji celic glije. (5) Sproščeni nevrotransmiter se prenese nazaj v presinaptični nevron in okolico glijo s pomočjo membransko vezanih proteinov.

Poleg že naštetega obstajata še dva pomembna pogoja za opredelitev prenašalca v osrednjem živčevju. Z vezavo na določene postsinaptične in presinaptične receptorje mora povzročiti

učinek, a obenem morajo obstajati mehanizmi za odstranjevanje prenašalca iz sinaptične špranje. V fizioloških razmerah mora biti učinek prenašalca časovno omejen.

Dogodki v sinapsi so prikazani na Sliki 4.1.

TVORBA IN SKLADIŠČENJE PRENAŠALCEV

Telo živčne celice sintetizira prenašalne molekule iz predstopenjskih molekul, ki jih v telo vnesemo s hrano ali pa nastajajo v telesu. V primeru acetilholina je predstopnja holin, monoaminski prenašalci nastajajo iz aminokislin tirozina, fenilalanina in triptofana. GABA in glutamat iz glukoze preko intermediatov Krebsovega cikla.

Na splošno nevrottransmitorji nastajajo v citoplazmi živčnih celic. Shranjuje se v mešičkih, ki so prisotni v neposredni bližini mesta sproščanja. Tak način shranjevanja omogoča, da je prenašalec zaščiten pred morebitno encimsko razgradnjo; po potrebi se lahko naenkrat sprostijo zelo velike količine prenašalca v sinapso. Po sproščanju lahko koncentracija prenašalca v sinapsi doseže vrednost 1 M.

Sproščanje prenašalcev

Sproščanje prenašalca lahko poteka z eksocitozo; manjše količine prenašalcev se lahko v zunajcelični prostor prenesejo prek transportnih proteinov.

Inaktivacija prenašalcev

Potem ko se je prenašalec vezal na ustrezne receptor živčne celice in prenesel informacijo, se mora njegovo delovanje čim prej končati, da se prepreči pretirano draženje. Signal mora biti zelo natančno uravnan – tako glede jakosti kot tudi trajanja.

Odstranjevanje prenašalcev z mesta delovanja in s tem prenehanje njihovega učinkovanja poteka po štirih mehanizmih:

1. **Difuzija** – koncentracija prenašalca, ki je v sinapsi prisoten v visoki koncentraciji (do 1 M), postopoma pade, ker se prenašalec sčasoma porazdeli v zunajcelično tekočino.

Proces je potraten, ker se prenašalci s tem procesom izločijo in se ne morejo ponovno uporabiti.

2. **Ponovni privzem v živčne celice** – predvsem monoaminski prenašalci in glutamat se znova privzame v živčne celice, iz katerih se je predhodno sprostil. Ta proces omogočajo transportne beljakovine.
3. **Privzem v celice glije** – glutamat in histamin se ne privzameta le v živčne celice, temveč tudi v astrocite, kjer se lahko s pomočjo encimov razgradijo v neaktivne metabolite. Glutamat se lahko v astrocitih razgradi v neaktivni glutamin, ki se sprosti v zunajcelični prostor, se privzame v živčne celice, kjer iz glutamina nastane glutamat (glutaminsko-glutamatni cikel, reciklaža neurotransmitorja).
4. **Encimska razgradnja** – večina prenašalcev se razgrajuje znotrajcelično. Izjema je acetilholin, ki ga razgrajuje zunajcelična acetilholin-esteraza v acetat in holin. Slednji se privzame v živčno celico in se uporabi pri sintezi acetilholina.

Na vse omenjene procese, razen difuzije, lahko vplivamo z zdravili. Kot primer bo predstavljena dopaminska sinapsa, kjer lahko povečamo učinek endogenega prenašalca dopamina oz. povečamo njegovo sintezo, če zaužijemo predstopnjo v sintezi dopamina (levo-DOPA); lahko tudi povečamo sproščanje dopamina iz živčnih celic (npr.: amantadin, metamfetamin, metilfenidat). Učinek dopamina lahko podaljšamo tudi s tem, da preprečimo njegovo razgradnjo z jemanjem inhibitorjev encima monoamin-oksidaza B.: selegilina in rasagilina, ali entakapona ter tolkapona, ki zavirata aktivnost encima katehol-O-metiltransferaze (COMT). Nenazadnje lahko uporabimo agoniste dopaminskih receptorjev npr.: apomorfin, pramipeksol, ropinirol. Ponovni privzem dopamina lahko zavremo s kokainom, metilfenifatom in metamfetaminom.

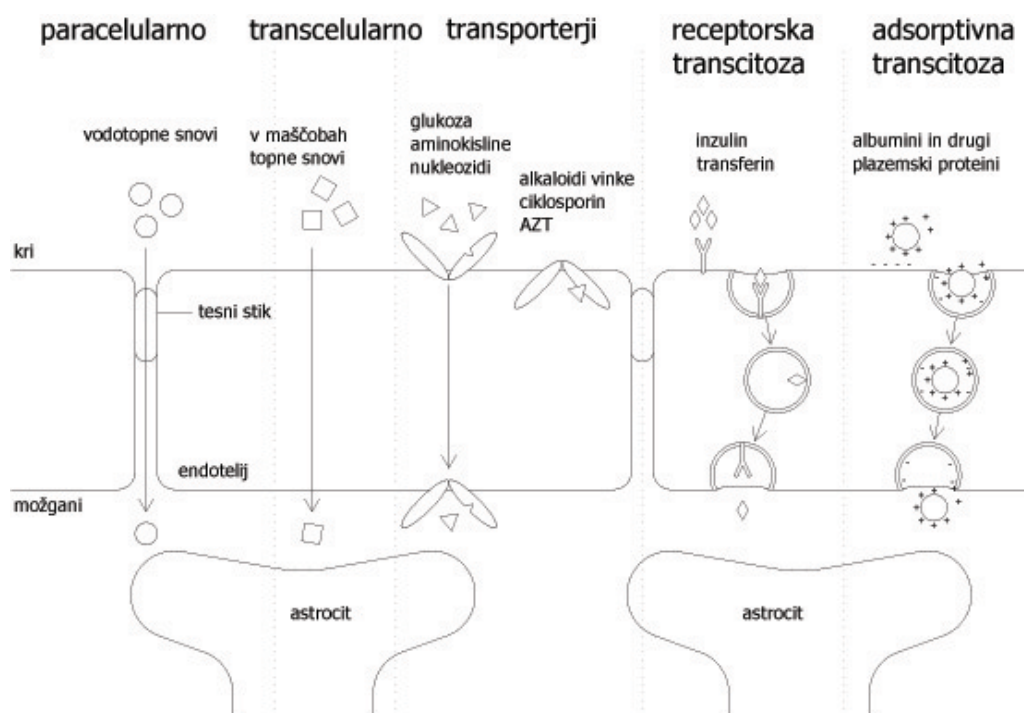
Pretirano delovanje dopamina v osrednjem živčevju lahko zmanjšamo z uporabo antagonistov in delnih agonistov dopaminskih receptorjev. Primeri so: klorpromazin, haloperidol in drugi antipsihotiki razen aripiprazola, ki je delni agonist dopaminskih receptorjev.

FARMAKOKINETIČNE LASTNOSTI ZDRAVIL, KI VPLIVAJO NA OŽ

Da lahko zdravilo preide v osrednji živčni sistem mora prehajati krvnomožgansko pregrado. Krvno možgansko pregrado lahko prehajajo zdravila z difuzijo, olajšanim transportom s pomočjo prenašalcev, s prehajanjem skozi vodne kanale, aktivnim transportom ter endo(trans)citozo.

Absorpcija

Z difuzijo skozi membrane lahko v osrednje živčevje vstopajo v maščobah topna zdravila npr. benzodiazepini, barbiturati, antipsihotiki; skozi paracelularne vodne poti vodotopne snovi z majhno molekulsko maso; s pomočjo transportnih proteinov lahko v osrednje živčevje vstopajo nekatere snovi, ki so nabite: aminokisliline, L-dopa, natrijev valproat, vinka alkaloidi; s transcitozo pa v možgane vstopajo nekateri protein kot npr. albumin, inzulin in transferin (Slika 4.2).



Slika 4.2: Načini prehajanja zdravil skozi krvnomožgansko pregrado.

Prehod snovi in zdravil v osrednje žilčevje omejujejo: molekulska masa polarnost in električni naboj.

Distribucija in eliminacija

Porazdelitev zdravil v osrednjem živčevju je odvisna od krvnega pretoka. Ker je osrednje živčevje dobro prekrvljeno, se večina, predvsem v maščobah topnih zdravil hitro porazdeli po možganih in učinek hitro nastopi, predvsem, če so bila aplicirana intravensko (intravenski anestetiki). Dobra prekrvavljena možganov pa poskrbi tudi za hitro izplavljanje zdravil in zato je učinek v osrednjem živčevju časovno omejen. V maščobah topna zdravila lahko dlje učinkujejo, ker se nalagajo v maščobnem tkivu zunaj osrednjega živčevja, iz tega depoja ponovno prehajajo v kri in lahko ponovno vstopajo v možgane (benzodiazepini). Prav tako lahko centralni učinek zdravil podaljšajo aktivni metaboliti nekaterih zdravil, ki prehajajo v osrednje živčevje (npr. benzodiazepini).

Metabolizem

Zdravila se v osrednjem živčevju le minimalno strukturno spremenijo.

SKUPINE ZDRAVIL, KI UČINKUJEJO V OSREDNJEM ŽIVČEVJU

Zdravila, ki učinkujejo v osrednjem živčevju lahko razdelimo po kemični strukturi (npr. benzodiazepini, butirofenoni), po mehanizmu delovanja (inhibitorji monoamino-oksidge A), po učinku na vedenje (halucinogeni, depresorji osrednjega živčevja), po klinični uporabi (antiparkinsoniki).

Svetovna zdravstvena organizacija je leta 1967 predlagala naslednjo razdelitev, ki je povzeta v tabeli 4.1.

Tabela 4.1: Pregled zdravil, ki učinkujejo v osrednjem živčevju.

Skupina zdravil	Opis	Primeri
Splošni anestetiki	zdravila, ki se uporabljajo za kirurško anestezijo	inhalacijski anestetiki: fluorirani ogljikovodiki: izofluran, sevofluran, desfluran, dušikov oksid; intravenski anestetiki: propofol, ketamin, etomidat
Anksiolitiki in sedativi	zdravila, inducirajo spanje in zmanjšajo anksioznost	modulatorji receptorja GABA-A: barbiturati, benzodiazepini (diazepam, alprazolam, temazepam...), nebenzodiazepinski modulatorji receptorja GABA-A (zolpidem, zaleplon), buspiron
Antipsihotiki	zdravila, ki olajšajo simptome shizofrenije	klasični antipsihotiki (haloperidol, klorpromazin), atipični antipsihotiki (sulpirid, klozapin, risperidon, sertindol, kvetiapin, olanzapin, aripiprazol)
Antidepresivi	zdravila, ki olajšajo simptome depresije	inhibitorji ponovnega privzema serotonina (fluoksetin, paroksetin, citalopram, sertralin); inhibitorji ponovnega privzema noradrenalina (nortriptilin, maprotilin) neselektivni inhibitorji privzema (amitriptilin, klomipramin), inhibitorji ponovnega privzema dopamina in noradrenalina (bupropion), antagonist serotoninskih receptorjev/inhibitorji ponovnega privzema serotonina (trazodon), NaSSAa (mirtazapin) inhibitorji MAO-A (moklobemid), litij.
Analgetiki	zdravila, ki se uporabljajo za nadzor bolečine	narkotični analgetiki – naravni: morfij, kodein; sintetični: petidin, fentanil, metadon
Stimulatorji OŽ	zdravila, ki povečajo budnost in povzročajo evforijo	amfetamini, kokain, kofein
Psihozomimetiki	zdravila, ki povzročijo motnje zaznavanja, predvsem vidne halucinacije in vedenje	LSD, meskalin in fenciklidin

Skupina zdravil	Opis	Primeri
Nootropična zdravila	zdravila, ki izboljšajo spomin in kognitivne funkcije	inhibitorji acetilholinesteraze (donepezil, galantamin, rivastigmin), antagonist receptorjev NMDA (memantin), piracetam, metilfenidat

Nekaterih od centralno delujočih zdravil ni v zgornji klasifikaciji, zato jih navajamo posebej (tabela 3.2.).

Tabela 3.2. Zdravila, ki tudi delujejo v osrednjem živčevju, vendar niso zajeta v klasifikaciji WHO.

Skupina zdravil	Opis	Primeri
Antiepileptična zdravila	zdravila, ki preprečujejo epileptične napade	inhibitorji natrijevih kanalov: karbamazepin, valprojska kislina, lamotrigin, zonisamid fos-fenitoin; inhibitorji kalcijevih kanalov: etosukcimid; GABA-ergična zdravila: benzodiazepini: klonazepam, klobazam, diazepam, midazolam; barbiturati: fenobarbiton, primidon; tiagabin, inhibitorji receptorjev za glutamat: topiramata; ostala: felbamat, gabapentin, pregabalin, levetiracetam

Zdravila, ki bodo uporabljena na vaji Ne klinično preizkušanje zdravil z učinkom na osrednje živčevje

Klorpromazin

Sintetiziran leta 1950, začetek uporabe 1953.

Farmakodinamika

Mehanizem delovanja: antagonist na naslednjih receptorjih - dopaminskih D2, histaminskih H1, muskarinskih, adrenergičnih α_1 , serotoninских 5HT1 in 5-HT2.

Učinki: izboljšanje pozitivnih (npr. halucinacije, blodnje pogosto preganjalne narave, stereotipni gibi), ne pa negativnih (npr. pomanjkanje želje po stiku z ljudmi, zadušeno čustvovanje) simptomov shizofrenije (motnje zaznavanja in mišljenja), zmanjšanje gibanja, antiemetično delovanje.

Neželeni učinki: ekstrapiramidni zanki (distonija, parkinsonizem, akatizija, tardivna diskinezija) posledica zavore dopaminskih receptorjev v nigrostriatni poti; motnje libida, ginekomastija, galaktoreja (blokada dopaminskih receptorjev v tuberoinfundibularni poti); antimuskarinski znaki (zamegljen vid, suha usta, sedacija, zmedenost, zaprtje in zadrževanje urina); ortostatska hipotenzija in glavobol (blokada adrenergičnih receptorjev), sedacija (zavora histaminskih receptorjev H1) motnje v regulaciji telesne temperature.

Farmakokinetika

Absorpcija: variabilna, neodvisna od prisotnosti hrane. Biološka uporabnost po zaužitju: 30-50%.

Distribucija: hiter prehod v osrednje živčevje in skozi posteljico, vezava na albumine v plazmi 95-98%, velik volumen distribucije 17 L/kg.

Metabolizem: obsežen metabolizem prvega prehoda; razgradnja v jetrih prek CYP1A2 in CYP2D6 v preko 100 različnih aktivnih metabolitov.

Eliminacija: 1 % nespremenjenega, ostalo metaboliziranega z urinom, fecesom, mlekom; $t_{1/2}$ 16-30 h.

Uporaba: v psihiatriji zelo redko, v paliativni medicini kot antiemetik in zdravilo, ki preprečuje kolcanje.

Fenobarbiton

Sintetiziran leta 1904, začetek uporabe 1912.

Farmakodinamika

Mehanizem delovanja: veže se na podenoto α receptorja GABA-A in podaljša odprtje kanala za Cl^- , zaviralec receptorjev za glutamat AMPA, zavora kanalov za Na^+ .

Učinki: splošna depresija osrednjega živčevja.

Neželeni učinki: sedacija, zaspanost, drugi centralni učinki: omotičnost, nistagmus, ataksija.

Pri starejših razdraženost in zmedenost, pri otrocih paradoksalno povzroča hiperaktivnost.

Redek neželen učinek je amelogenesis imperfecta.

Farmakokinetika

Absorpcija: je dobra, biološka uporabnost po zaužitju znaša skoraj 90 %.

Distribucija: se hitro razporedi v osrednje živčevje, vezava na proteine v plazmi 20-45 %, volumen distribucije 0,60 L/kg.

Metabolizem: razgradnja v jetrih (hidroksilacija) preko CYP2B6, ki ga jemanje fenobarbitona inducira in konjugacija.

Eliminacija: $t_{1/2}$ 2-7 dni. V glavnem se izloča prek ledvic.

Uporaba: antiepileptik pri večini napadov razen pri absencah, najpogosteje uporabljen antiepileptik pri otrocih mlajših od 3 let.

5. POSKUS NA ŽIVALIH – PRIMERI PREIZKUŠANJA ZDRAVIL Z DELOVANJEM NA OSREDNJE ŽIVČEVJE

Katarina Černe

Za uvajanje novih zdravil moramo v predklinični fazi preizkušanja opraviti poskuse tudi na celi živali (*in vivo*). Za ugotavljanje učinkov zdravil na osrednje živčevje so na voljo posebni živalski modeli, predvsem na podganah in miših. Lahko si predstavljamo, da pri živalskih modelih potrebujemo veliko domiselnosti, da razvijemo test, s katerim lahko ovrednotimo učinke na vedenje, kognicijo in čustva. Običajno je za to potrebno več testov. Poleg učinkovitosti pa moramo v predklinični fazi zdravila preizkusiti tudi glede nevrotoksičnosti, še posebej razvojne nevrotoksičnosti, ki je vključena v reprodukcijsko študijo. Centralni učinki so med tistimi, katerih preizkušanje na celi živali najtežje nadomestimo z metodami *in vitro*.

Ločiti moramo dva koncepta:

- **Živalski modeli, ki ponazarjajo človekovo vedenje:** predstavljajo modeli, kjer živali naučimo določenega vedenja, ki ga primerjamo z vedenjem človeka. Pri tem uporabimo posebne situacije in testne naprave. Ti so uporabni za preučevanje nevrobioloških mehanizmov vedenja in kognicije, povezanih s človekovim vsakodnevnim življenjem (učenje, spomin, itd).

- **Živalski modeli, ki ponazarjajo nepravilnosti v delovanju možganov človeka:** predstavljajo modeli posebnih stanj, kot so shizofrenija, strah, depresija, amnezija, Parkinsonova bolezen. To lahko dosežemo s posebnimi tehnikami poškodb določenih predelov osrednjega živčevja (npr. Parkinsonova bolezen izzvana z enostranskim (6-hidroksidopaminski model) ali obojestranskim uničenjem substance nigre (model MPTP, 1-metil,4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridun), tretiranjem z zdravili in kemikalijami (npr.: metamfetamin za shizofrenijo; kainat, NMDA, pilokarpin za epilepsijo) ter z genetskimi spremembami.

Irwing (1959) je v svojih poskusih dokazal, da mora biti število živali v presejalnem poskusu najmanj tri. Za študij učinkov snovi, ki delujejo na osrednje živčevje, je sestavil skalo

opazovanj, ki jih je vrednotil od 0 do 8 točk. Pri farmakološko aktivni snovi mora biti vrednost posameznega testa vsaj 4, da je snov vredno preizkušati še naprej.

Tabela 5.1: Profil delovanja snovi na osrednje živčevje po Irwing-u

Vedenje	Nevrološki profil	Profil avtonomnega živčnega sistema	Toksičnost
<p><i>1.1. Zavest</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • živahnost • položaj (lega) živali • stereotipija • pasivnost <p><i>1.2. Razpoloženje</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • vokalizacija • nemir • razdražljivost • agresivnost • preplašenost <p><i>1.3. Motorična aktivnost</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • spontana aktivnost • reaktivnost • odzivanje na dotik • odzivanje na bolečino 	<p><i>2.1. Centralna ekscitacija</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • preplašenost • Straubov fenomen • tremor • konvulzije • opistotonus <p><i>2.2. Motorična nekoordinacija</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • telesni položaj • lega udov • opotekanje • nenormalna hoja • test obračanja (refleks vstajanja) <p><i>2.3 Mišični tonus</i></p> <p>tonus udov moč oprijemanja tonus abdomna</p> <p><i>2.4. Refleksi</i></p> <p>refleks uhlja kornealni refleks fleksorski refleks</p>	<p><i>3.1. Očesni znaki</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • premer pupile • odprtina očesa • eksoftalmus <p><i>3.2. Sekretija</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • uriniranje • salivacija • lakrimacija <p><i>3.3. Splošni znaki</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • piloerekcija • hipotermija • barva kože • srčna frekvenca • frekvenca dihanja 	LD ₅₀

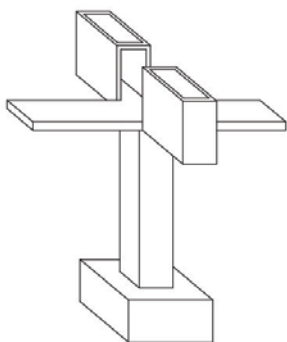
PREIZKUŠANJE ANKSIOLITIKOV

Poleg čustvene komponente strahu obstajajo tudi merljivi vedenjski in fiziološki učinki, ki se pojavijo tudi pri živalih. Strah izzove vedenjsko inhibicijo kot odgovor na novo situacijo, ko ni nagrade (a jo žival pričakuje), je ogrožajoča ali boleča.

Žival damo v *nepoznano okolje*. Običajen odziv je negibnost telesa za nekaj časa, čeprav je žival pozorna. Negibnost je posledica strahu. Če damo živali anksiolitik, se čas negibnosti skrajša.

Pogosto uporabljen test je *dvignjen prekrížan labirint* (angl. *elevated plus maze*) (Slika 5.1.)

Naprava je dvignjena in jo predstavljata dve rami, ki sta prekrížani v obliki znaka plus. Dve strani ene rame sta zaprti, medtem ko sta dve strani druge rame odprti. Žival položimo na presečišče obeh ram in izmerimo, koliko časa je žival v vsaki rami. Glodavci običajno raje izberejo zaprto ramo. Benzodiazepini močno podaljšajo čas, ko je žival v odprti rami.



Slika 5.1: Dvignjen prekrížan labirint za preizkušanje anksiolitikov

Lahko uporabimo tudi *test konflikta*. Podgano naučimo, da pritisne na palico, da dobi hrano. Nato vpeljemo element konflikta: zvočni signal, ki mu občasno sledi "kaznovanje" v obliki elektrošoka kot dodatek k nagradi v obliki hrane. Normalno žival ne pritisne več na palico (vedenjska inhibicija) in se tako izogne šoku, kadar zasliši zvok. Anksiolitik pa deluje tako, da žival kljub kazni še vedno pritisne na palico. Ostala psihotropna zdravila in analgetiki v tem

smislu niso učinkoviti. To je dokaz, da anksiolitiki ne delujejo tako, da zvišajo prag za bolečino.

V drugih testih lahko agresivno vedenje izzovemo eksperimentalno s poškodbo septuma mezencefalona ali tako, da miš držimo osamljeno v kletki (miši normalno žive v skupini in se tako počutijo varne) in nato vpeljemo tujo miš. Anksiolitiki v takšni situaciji zmanjšajo agresivnost.

PREIZKUŠANJE ANTIPSIHOTIKOV

Značilna lastnost shizofrenije je pomanjkanje 'selektivne pozornosti'. Človek se hitro navadi na dražljaj, ki je pogost in nima posledic, in se odzove le na dražljaj, ki je nepričakovan ali močan. Sposobnost shizofrenega bolnika, da loči med pomembnim in nepomembnim dražljajem, pa je očitno prizadeta. Tako denimo tiktakanje ure izzove enako pozornost kot govorjenje prijatelja. '*Latentna inhibicija*' je oblika vedenjskega testa, ki ga uporabljajo kot živalski model za ta tip senzorične habituacije. Podgano izpostavimo 'pogojenemu' dražljaju (kot je zvonec), ki mu sledi 'nepogojeni' dražljaj (šok v noge) in se mu lahko izogne tako, da pritisne palico. Podgana se hitro nauči, da ko zasliši zvonec, pritisne na palico. Če pa je prej večkrat slišala zvonec, ne da bi mu sledil šok v noge, bo potrebno več časa, da se nauči (latentna inhibicija), ker se je navadila na zvonec in ga sploh več ne sliši. Latentna inhibicija je večkrat slabša pri shizofrenih bolnikih ter pri živalih tretiranih z amfetamini ali psihotomimetičnimi učinkovinami, kot je LSD, in se ponovno vzpostavi z antipsihotičnimi zdravili.

ETIČNA VPRAŠANJA IN POSKUSI NA ŽIVALIH

Brez poskusov na živalih razvoj zdravil še ni mogoč. Pri tem ne smemo pozabiti, da poskusne živali niso zgolj objekti poskusa, temveč da so subjekti, zato moramo ravnati z njimi primerno, brez povzročanja nepotrebnih stresov, bolečin ali drugih oblik trpljenja.

V zadnjem času se hitro razvijajo t.i. alternativne metode, katere vodi rdeča nit miselnega sistema treh R :

Nadomestitev (angl. *Replacement*): nadomestitev z metodo, ki ne uporablja poskusnih živali (*in vitro, ex vivo, in silico* zamenjava)

Zmanjšanje (angl. *Reduction*): zmanjšati število poskusnih živali na najmanjše možno.

Izboljšanje (angl. *Refinement*): z izboljšano tehniko opraviti poskus na živali tako, da bo zanesljivo uspel in da bo stres za žival najmanjši in najkrajši.

Če izvajamo poskuse na živalih nam Zakon o zaščiti živali natančno določa pogoje, ki jih moramo za zaščito živali zagotoviti, če izvajamo tovrstne poskuse.