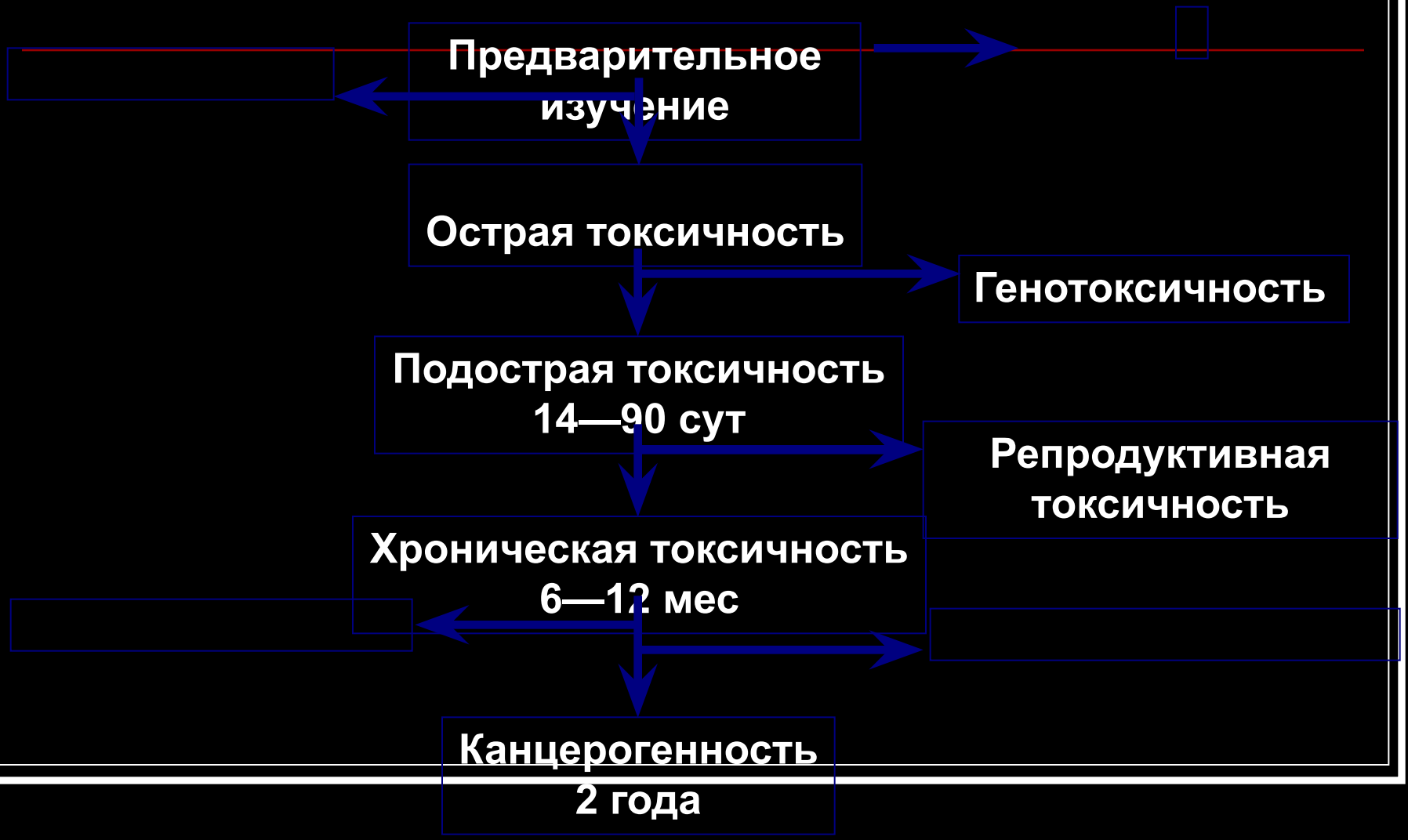
Токсичность

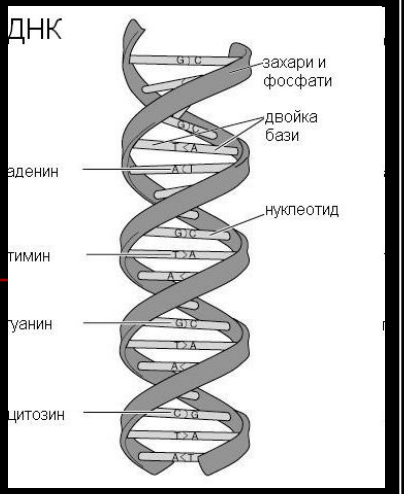
ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ:

- Острая токсичность
- Подострая токсичность
- Хроническая токсичность
- Репродуктивная токсичность
- Генотоксичность
- Канцерогенность

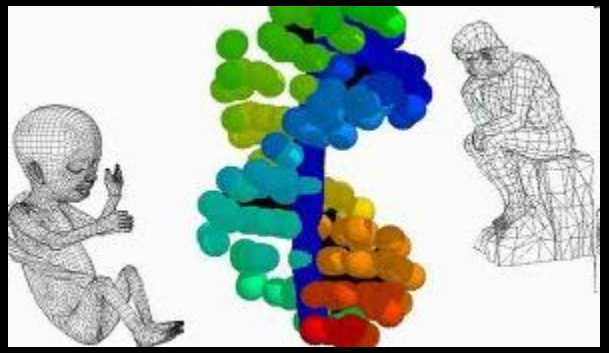
СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧНОСТИ



СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ



- мутагенное;
- канцерогенное;
- эмбриотоксичность;
- гонадотоксичность;
- аллергизирующее;
- иммунотоксическое действие.



На современном этапе основными задачами токсикологии при изучении действия химических веществ на процессы репродукции являются:

- оценка действия новых химических соединений на репродукцию,
- разработка методов прогнозирования развития гонадотропных и эмбриотропных эффектов,
- унификация отечественных и зарубежных критериев оценки опасности химических соединений на репродуктивное здоровье.

Для всех уровней организации живых систем характерны свойства, отличающие живую материю от неживой. К числу основных, фундаментальных свойств живого относятся:

- Потребление из окружающей среды и превращение питательных веществ.
- Обмен веществом и энергией с окружающей средой.
- Регуляция.
- Раздражимость и реактивность.
- ***Репродукция.***
- Изменчивость.

Репродукция.

- *Это свойство обеспечивает поддержание или увеличение численности биологических объектов всех видов и типов. В основе репродукции лежит процесс клеточного деления. В ходе клеточного деления осуществляется перенос ДНК (генетического материала) материнских клеток к дочерним клеткам и за счет этого обеспечивается в последующем репродукция и всех остальных компонентов живого. Сохранение информации о свойствах предшествующих поколений, зашифрованных в молекулах ДНК (генах), передающихся из поколения в поколение - суть наследственности.*
- ***Половое размножение** - это объединение генетического материала половых клеток родителей и образование оплодотворенной яйцеклетки, содержащей двойной набор хромосом. Соотношение генетического материала обоих родителей в дочерней клетке формируется случайным образом. Фенотипические особенности нового организма в этой связи не будут полностью повторять свойства отцовского или материнского организмов, то есть возникает новая, не существовавшая ранее биологическая конструкция.*

Под мутацией

- ***понимают некое спонтанное или вызванное внешним воздействием изменение генетического материала, которое передается в ходе репродукции дочерним клеткам. Эти модификации фенотипически могут проявляться в различной степени: от практически незаметных изменений признаков, до очевидных, и иметь различные последствия для адаптивных свойств организма.***
- Мутации в соматических клетках потенциально опасны в плане развития злокачественных заболеваний у данного индивидуума.
- Мутации в половых клетках (генеративные мутации) – опасны в плане развития патологии у потомков.

Пороки развития

- — это стойкие отклонения в строении органов, приводящие к функциональным расстройствам.
- Существует несколько различных критериев, на основе которых классифицируют врожденные пороки развития.
- В зависимости от причины все врожденные пороки развития делят на:
- Ø наследственные
- Ø экзогенные (средовые)
- Ø мультифакториальные.
- Основная роль в профилактике патологии репродуктивной функции отводится эксперименту. Задачи профилактической токсикологии — определение порогов вредного действия ядов на функцию и морфологию половых желез, развитие плода и потомства.

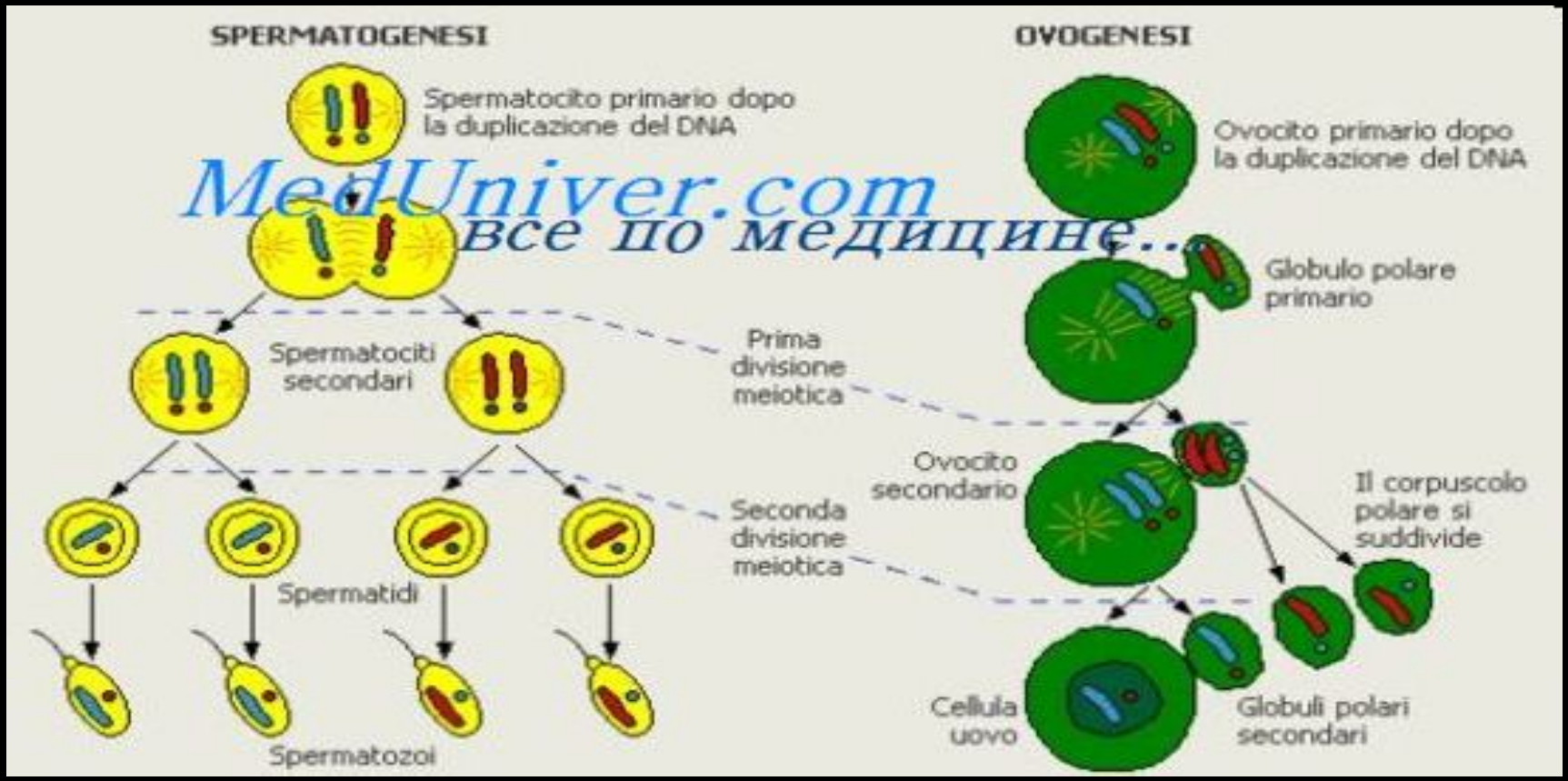
ГОНАДОТОКСИЧНОСТЬ –

- вредное воздействие на гонады (половые железы) – может проявляться в повреждении половых клеток или секреторной функции гонад. Гормоны половых желез, в том числе, контролируют созревание половых клеток, эстральный (менструальный) цикл, течение беременности, лактацию и т.д.

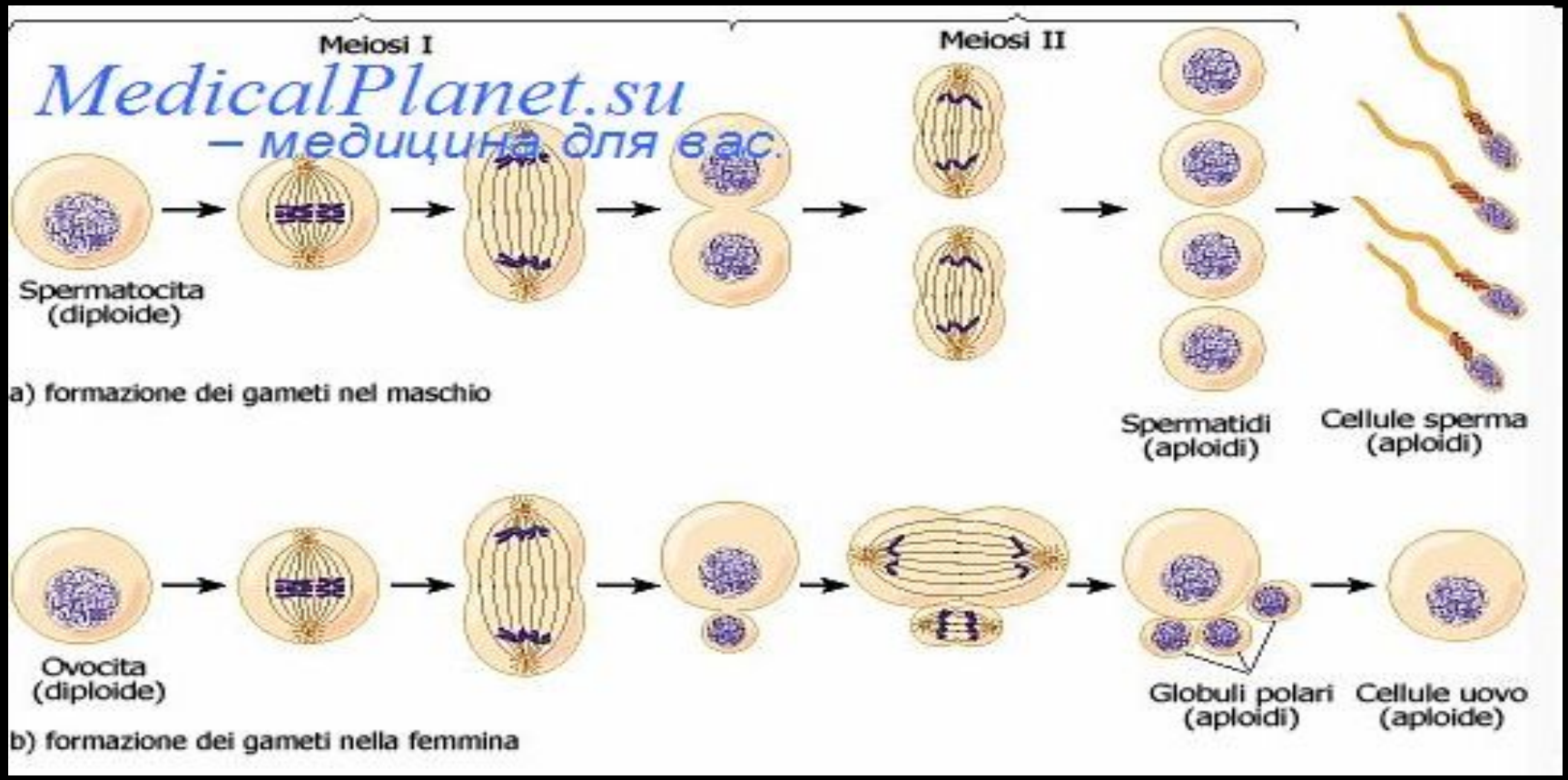
Гаметогенез

- **или предзародышевое развитие — процесс созревания половых клеток, или гамет. Поскольку в ходе гаметогенеза специализация яйцеклеток и спермиев происходит в разных направлениях, обычно выделяют овогенез и сперматогенез соответственно.**
- **Центральное событие в процессе гаметогенеза — редукция диплоидного набора хромосом (в ходе мейоза) и формирование гаплоидных гамет.**
- **Клетки, из которых в последующем образуются мужские и женские гаметы, называются сперматогониями и овогониями соответственно. Они несут диплоидный набор хромосом 2n.**
- Сперматогонии размножаются в течение всего репродуктивного периода в мужском организме.
- Размножение овогоний происходит главным образом в эмбриональном периоде. У человека в яичниках женского организма процесс размножения овогоний наиболее интенсивно протекает между 2 и 5 месяцами внутриутробного развития. К концу 7 формируются гаметы - овоциты (n).

Гаметогенез



Гаметогенез



В результате стадии созревания:

- 1 сперматоцит дает 4сперматозоида, а 1 овоцит - 1 зрелую яйцеклетку и три редукционных тельца. Это имеет определенный биологический смысл. Накопление в цитоплазме яйцеклетки большого количества запасных питательных веществ необходимо, так как на этой «базе» осуществляется развитие дочернего организма из оплодотворенного яйца. Функция же сперматозоидов заключается в отыскании яйцеклетки, проникновении в нее и доставке своего хромосомного набора. Их существование кратковременно, а поэтому нет необходимости в запасании большого количества веществ в цитоплазме. А поскольку сперматозоиды в массе гибнут в процессе поиска яйцеклетки, их образуется огромное количество.
- **Гонадотоксическое действие может проявляться повреждением ДНК в половых клетках или нарушением гормональной функции половых желез.**

Методы оценки функционального состояния яичников у экспериментальных животных.

- **У самок:**

1. исследование общей продолжительности эстрального цикла и отдельных фаз, ритмичность их чередования;
2. • определение относительной массы и количественная оценка структуры функциональных элементов яичников;
3. Функциональное и морфологическое состояние отдельных органов и систем (периферическая кровь, печень, почки и др.).
4. Особое внимание должно быть уделено нейроповеденческим реакциям потомства.

- • Половое созревание (состояние эстрального цикла, сперматогенеза) и фертильность I поколения.
- • Выявление скрытых или мало выраженных изменений и полноценности потомства с помощью различных нагрузочных тестов.

Методы оценки функционального состояния яичников у экспериментальных животных.

- У самцов:
- общая клеточность гомогената ткани семенников,
- определить количество отдельных типов половых клеток,
- подвижность, резистентность к химическим факторам, аномалии строения сперматозоидов.
- **Метод доминантых леталей.**

Эмбриотксичность

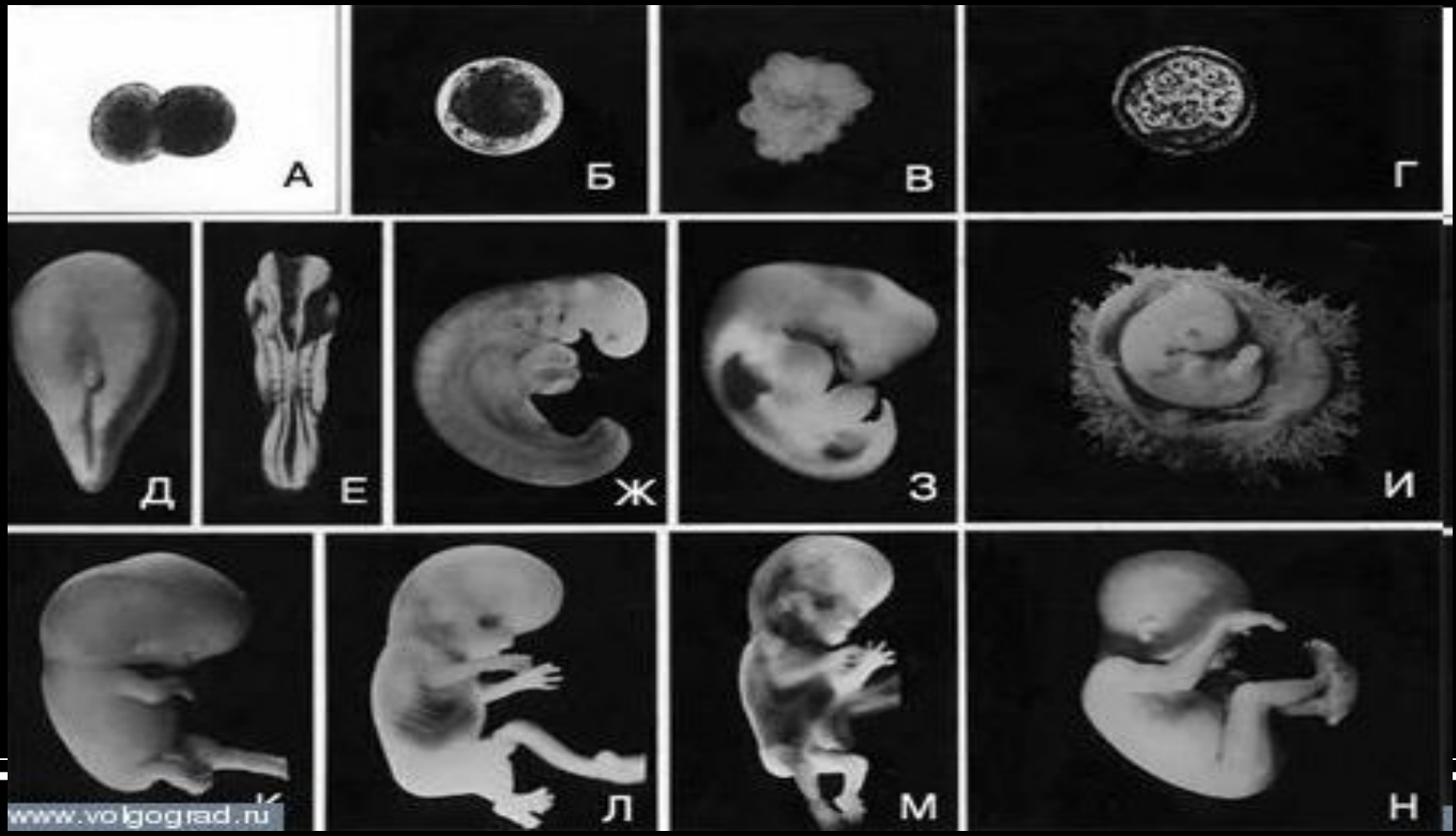
- – способность вещества вызывать гибель эмбрионов при воздействии на организм матери во время беременности.

- **Тератогенность** – способность вещества вызывать уродства эмбрионов при воздействии на организм матери во время беременности.

Эмбриогенез

- Во время оплодотворения из двух родительских клеток с половинным набором хромосом образуется одна — зигота. Это полноправное образование, со своим неповторимым генетическим кодом, определяющим пол будущего ребенка, его характер, цвет глаз, форму ушей, интелектуальные способности и др. Зигота находится в фаллопиевой трубе. Лишь на седьмые сутки она опускается в матку. Эмбриончик, прикрепляется к стенке матки и «зарывается» в нее. Этот процесс называется имплантацией и длится около 40 часов.

Эмбриогенез



Эмбрион становится плодом в 10 недель, размер – 3 см

Развитие зародыша у млекопитающих обычно подразделяется на три главные фазы:

Виды	Предимплан-тационный период, сутки	Основной органогенез, сутки	Период развития плода, сутки
Хомяк	0 – 5	6 – 12	13 – 16,5
Мышь	0 – 5	6 – 13	14 – 19,5
Крыса	0 – 7	8 – 15	16 – 21,5
Кролик	0 – 5	6 – 15	16 – 31,5
Морская свинка	0 –8	9 – 25	25 сут. – 9 недель
Собака	0 – 17	18 – 30	31сут. – 9 недель
Человек	0 – 8	9 – 40	40 сут. – 9 мес.

Уродства у животных (Monstra) -

- стойкие отклонения организма или его частей от нормального анатомического строения, развивающиеся в эмбриональный период. Тестирование тератогенной и эмбриотоксической активности внешних агентов является одной из мер профилактики эмбриопатий и врожденных пороков развития человека в условиях контакта беременных женщин с исследуемыми факторами.

Эмбриопатии

- Если нарушения происходятразвития на стадии предимплантационной, то дальнейшее развитие, видимо, не идет и зародыш погибает.
- На стадии активного органогенеза - эмбриопатии (нарушения, возникшие в период от 15 суток до 8 недель эмбрионального развития) как раз составляют основу врожденных пороков (врожденные пороки сердца, центральной нервной системы, органов пищеварения, пороки развития почек, врожденные пороки лица).
- В плодный период - фетопатии (нарушения, возникшие после 10 недель эмбрионального развития) представляют собой такие патологические состояния, для которых, как правило, характерны не грубые морфологические нарушения, а отклонения общего типа: в виде снижения массы, задержки интеллектуального развития, различных функциональных нарушений.
- Очевидно, что наибольшее клиническое значение имеют эмбриопатии и фетопатии.

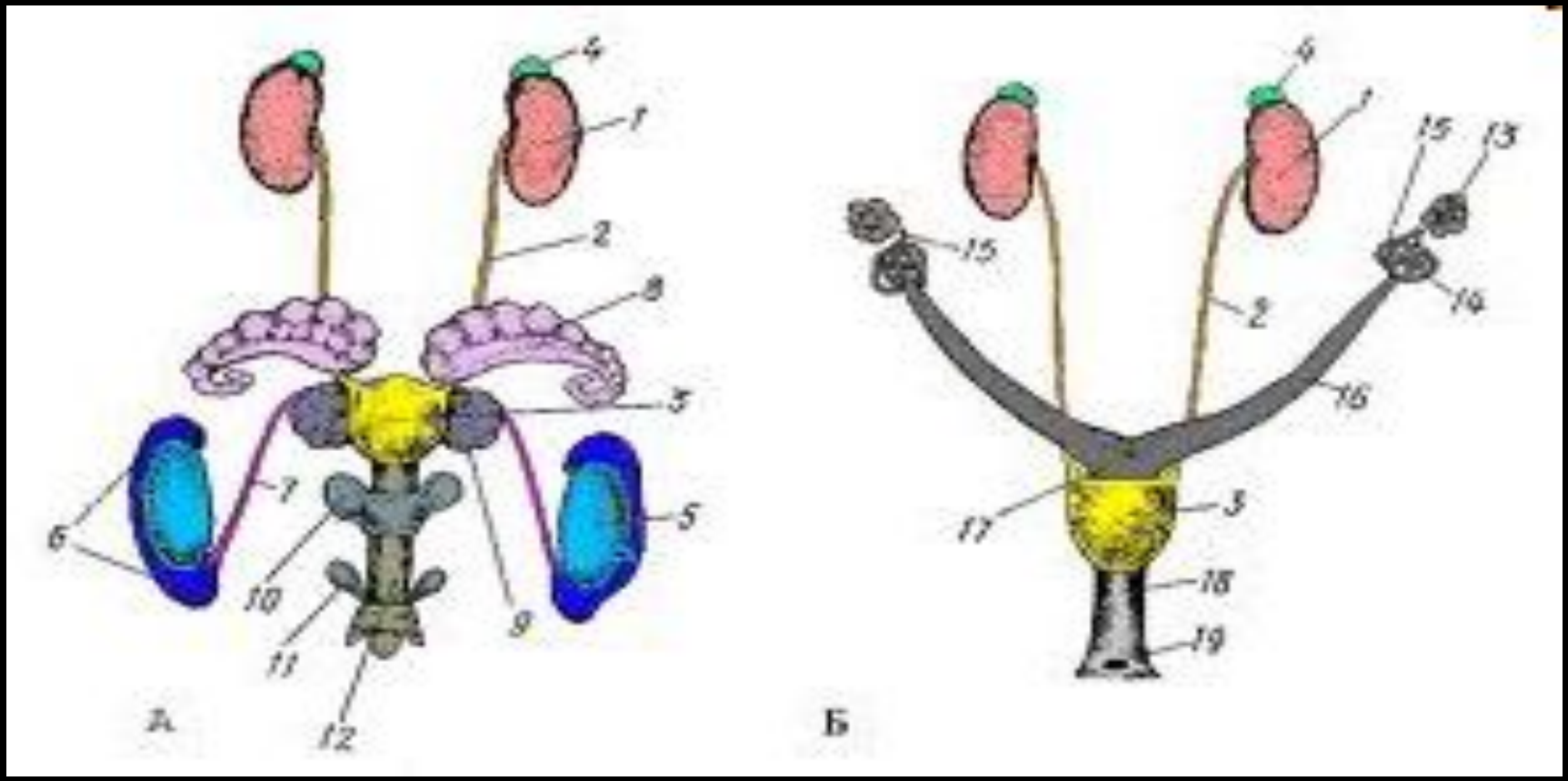
Тестирование тератогенного действия

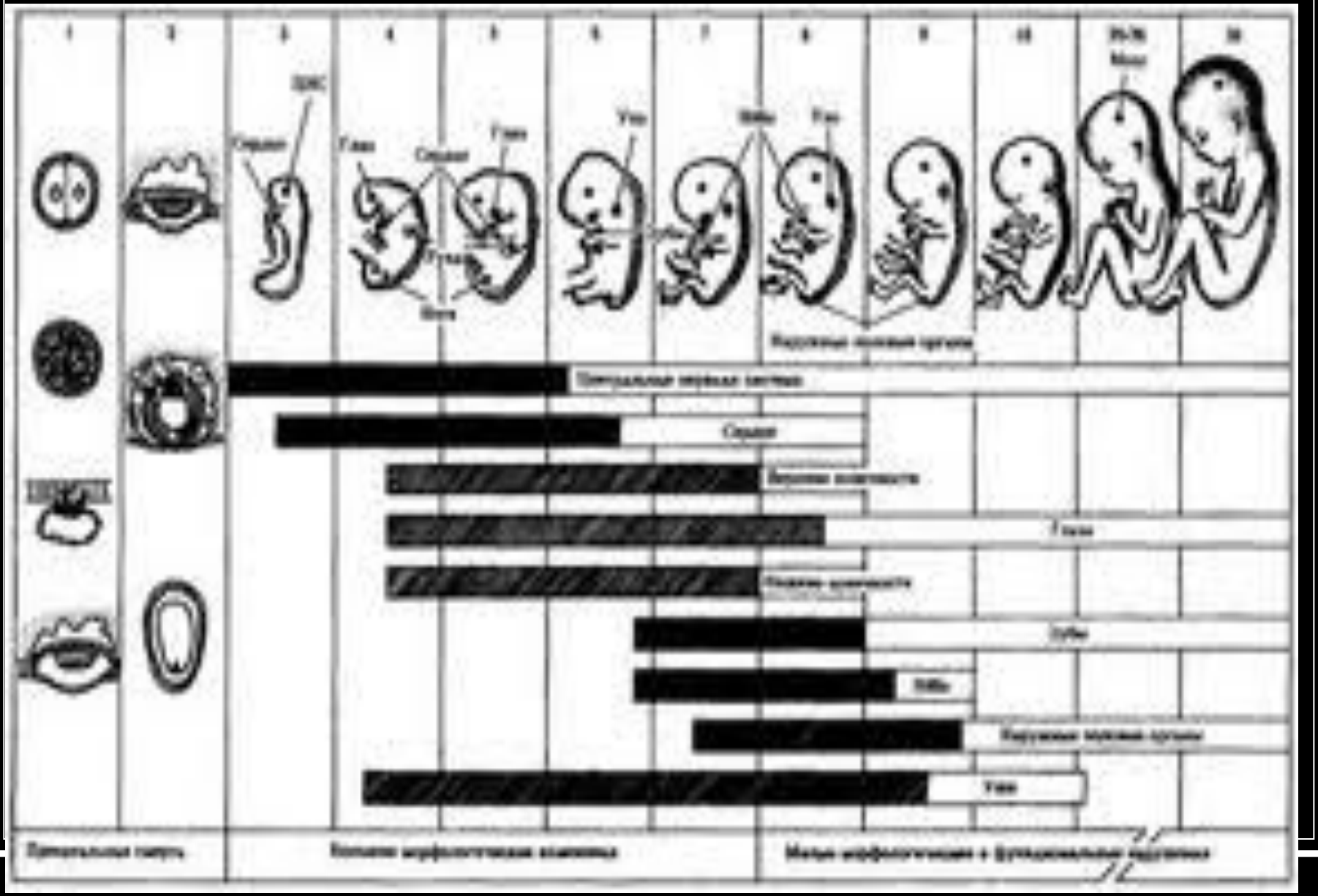
- Нельзя испытывать воздействие исследуемого фактора только в отдельные сроки беременности, в том числе только во время так называемых критических периодов эмбриогенеза, так как на одних и тех же стадиях развития эмбрион может проявлять наиболее высокую чувствительность к одним повреждающим агентам и наиболее высокую устойчивость к другим. Поэтому при тестировании необходимо воздействие агента на протяжении всей беременности.
- Далее можно оценивать эмбриотоксическое и тератогенное действие агента в различные периоды эмбриогенеза – предимплантационный (1-5 сутки беременности), период основного органогенеза (8-11 сутки беременности), плодный период (с 12 суток беременности).

Метод

- Последствия действия исследуемого фактора на эмбриогенез у крыс и мышей учитывают на 19-20 сутки беременности. На этом сроке беременности подопытных животных умерщвляют и на вскрытии подсчитывают число желтых тел в яичниках, а в матке – число мест имплантации, количество живых, мертвых плодов и мест резорбции, учитывают частоту и типы патологии у плодов, массу тела, кранио-каудальный размер, пол. Для полного выявления тератогенного действия тестируемого агента необходимо исследовать плоды при помощи комплексного микроанатомического метода (на серии разрезов, сделанных от руки бритвой и на тотальных препаратах, окрашенных ализарином).
- По полученным данным рассчитывают следующие показатели:
- 1.Предимплантационная смертность(%).
- 2.Постимплантационная смертность(%).
- 3.Выживаемость эмбрионов (%).
- 4.Относительное количество эмбрионов с патологией развития (%).

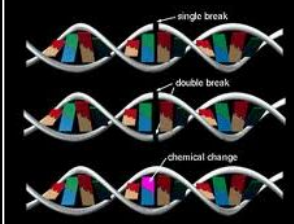
Строение мочеполовой системы




1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12-13
14
Мозг
Сердце
Глаз
Ухо
Нога
Рука
Нервная система
Сердце
Глаза
Уши
Ноги
Руки
Нервная система
Сердце
Органы чувств
Конечности
Органы размножения
Уши
Полная морфологическая изоляция
Малые морфологические + функциональные изоляции

На основании полученных данных делается заключение по тестируемому агенту:

- 1. Агент относится к истинным тератогенам. Истинные тератогены поражают развитие всех или почти всех зачатков органов. Тератогенный эффект хорошо воспроизводится в повторных сериях опытов. Истинные тератогены вызывают уродства и гибель эмбрионов в дозах, не оказывающих токсического действия на материнский организм.
- 2. Агент обладает слабыми потенциальными тератогенными свойствами. Эмбриотоксические и тератогенные свойства агентов этого класса проявляются только в токсических для самок дозах.
- 3. Препарат не обладает тератогенными свойствами. Показатели, полученные при тестировании агента, не отличаются от контрольных данных.

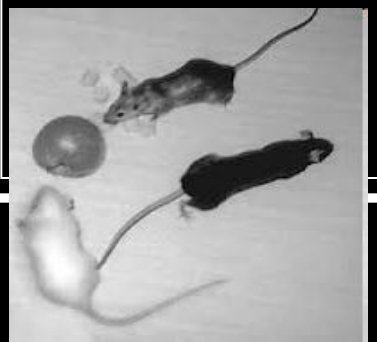


Оценка канцерогенных и мутагенных свойств.

- В большинстве случаев соматические мутации, вероятно, участвуют в превращении нормальных клеток в злокачественные. Наследуемые мутации образуются в половых клетках и передаются по наследству. Эти два процесса могут иметь общий уровень обсуждения, а именно, их способность вызывать изменения в генетическом аппарате клетки.

Существует несколько методов оценки канцерогенности вещества.

- Прежде всего, это традиционный путь воздействия на организм в течение всей жизни.
- Различные тест-системы in vitro для изучения мутогенности, в том числе повреждение ДНК, мутагенное действие на бактерии и эукариоты и трансформация клеточных структур.



.КРАТКОСРОЧНЫЕ ТЕСТЫ (ускоренные скрининговые тесть

- Разработан ряд сравнительно недорогих тестов, во многих из которых вместо цельного организма млекопитающих используются другие биологические системы.
- Почти все краткосрочные тесты основаны на демонстрации хромосомных повреждений, генных мутаций или повреждения ДНК, при этом многие из них проводятся in vitro.
- В этих краткосрочных тестах используется очень широкий спектр организмов – от бактерий и дрожжей до насекомых, растений и культивируемых клеток млекопитающих.

Хронические тесты на животных.

- Канцерогенные свойства в-ва на животных обычно определяются в результате длительного, сопоставимого с продолжительностью жизни срока воздействия.
- Эти тесты чаще всего проводятся на грызунах, среди грызунов предпочтительнее – мыши, крысы, сирийские хомячки (в силу их высокой чувствительности).
- Для мышей, крыс – это 1,5-2,5 года. Формируются группы животных, которые будут подвергнуты тестируемому в-ву, и контрольные группы. Доза должна быть достаточной, чтобы обеспечить канцерогенный эффект, но не настолько токсичной, чтобы животные погибали во время латентного периода.
- Считается, что опухоли чаще всего развиваются в последние 15 % жизни животного. Наблюдение проводится в течение всего эксперимента. Ежедневно фиксируют гибель животных. Проводят вскрытие погибших животных, отбор органов на гистологию, гистологические исследования. Определяют СПЖ животных без опухолей, СПЖ животных с опухолями, структуру смертности. Сравнивают показатели в контроле и экспериментальной группе.
- Эти эксперименты трудоемки и затратны.

- Более углубленные исследования нужно, тем не менее, проводить на животных, т. к. на организменном уровне события развиваются несколько иначе. Организм – это сложная система. Иммунный надзор. Репарация. И т. д.
- Кратковременные тесты используют для первичного скрининга химических веществ на потенциальную канцерогенную активность.
- Около 80 % канцерогенов являются мутогенами.