# Биологический мониторинг

**Тема 3**

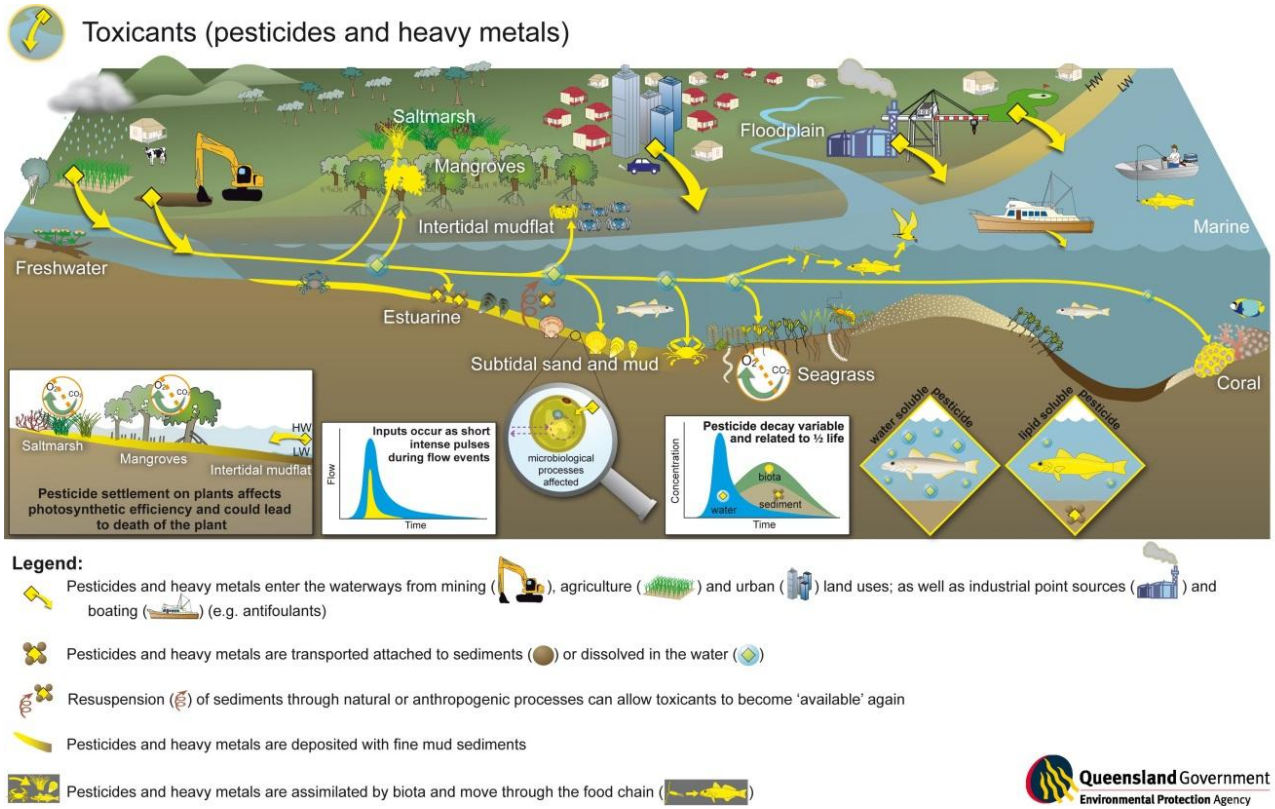
**Учет процессов миграции и трансформации токсикантов**

# Миграция и трансформация токсических веществ

В программе биомониторинга важно учитывать высокую степень неоднородности распределения загрязняющих веществ (ЗВ) в экосистеме.

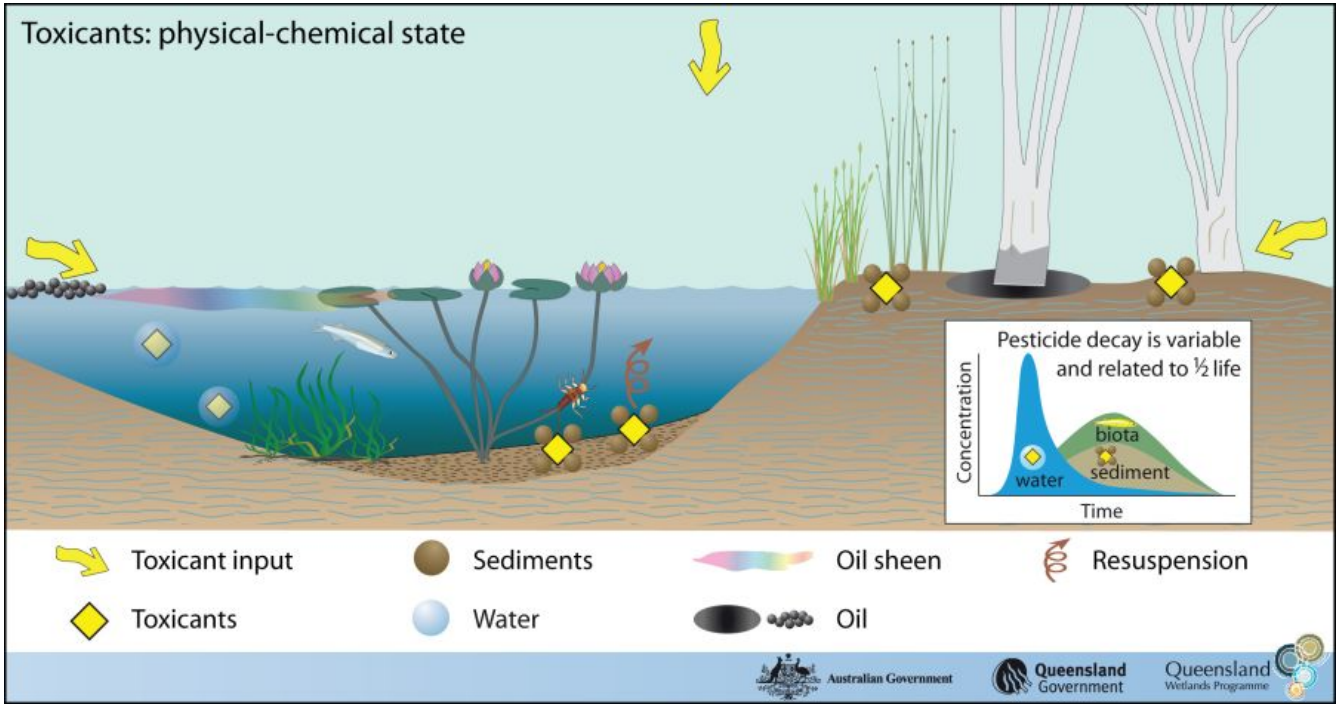
Существует два аспекта проблемы:

1) Пространственная неоднородность распределения ЗВ в окружающей среде;
2) Наличие нескольких форм присутствия одних и тех же токсических веществ.



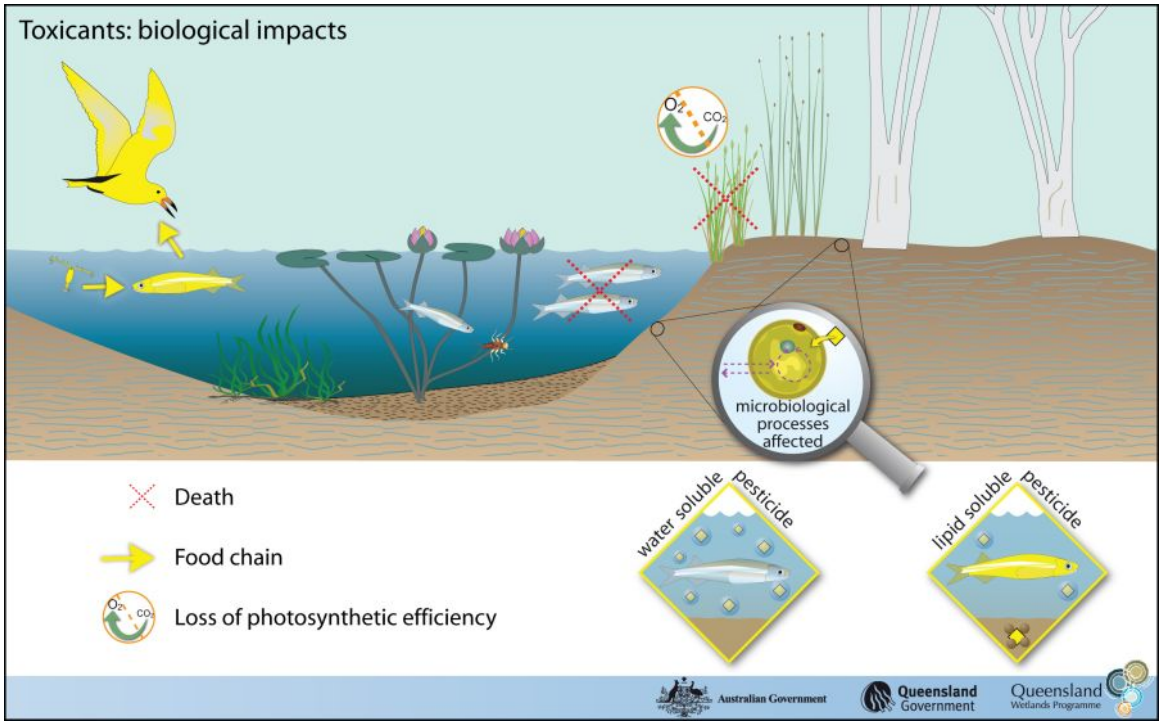
# Миграция и трансформация токсических веществ

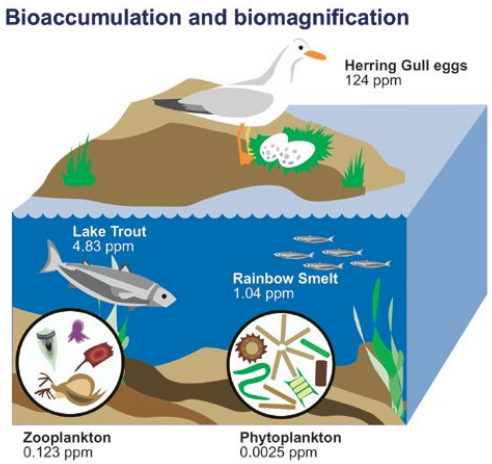
- С одной стороны это затрудняет оценку последствия загрязнения, т.к. требует учета переноса вещества в самой экосистеме, однако с другой стороны неоднородность распределения дает дополнительные возможности, связанные с обнаружением отдаленных последствий загрязнения.
- Информацию о характере процессов, определяющих природу распределения токсического вещества необходимо знать до формирования программы наблюдения, т.к. эти особенности будут определять и основные объекты наблюдения, и способы оценки биологического отклика системы.



# Миграция и трансформация токсических веществ

- Распределение вещества в окружающей среде определяется его природой и для большинства распространенных токсикантов такая информация имеется.
- Например, при оценке действия тяжелых металлов следует учитывать их накопление в донных отложениях водоемов, а также процессы биоаккумуляции в определенных живых организмах, представленных в данной экосистеме.



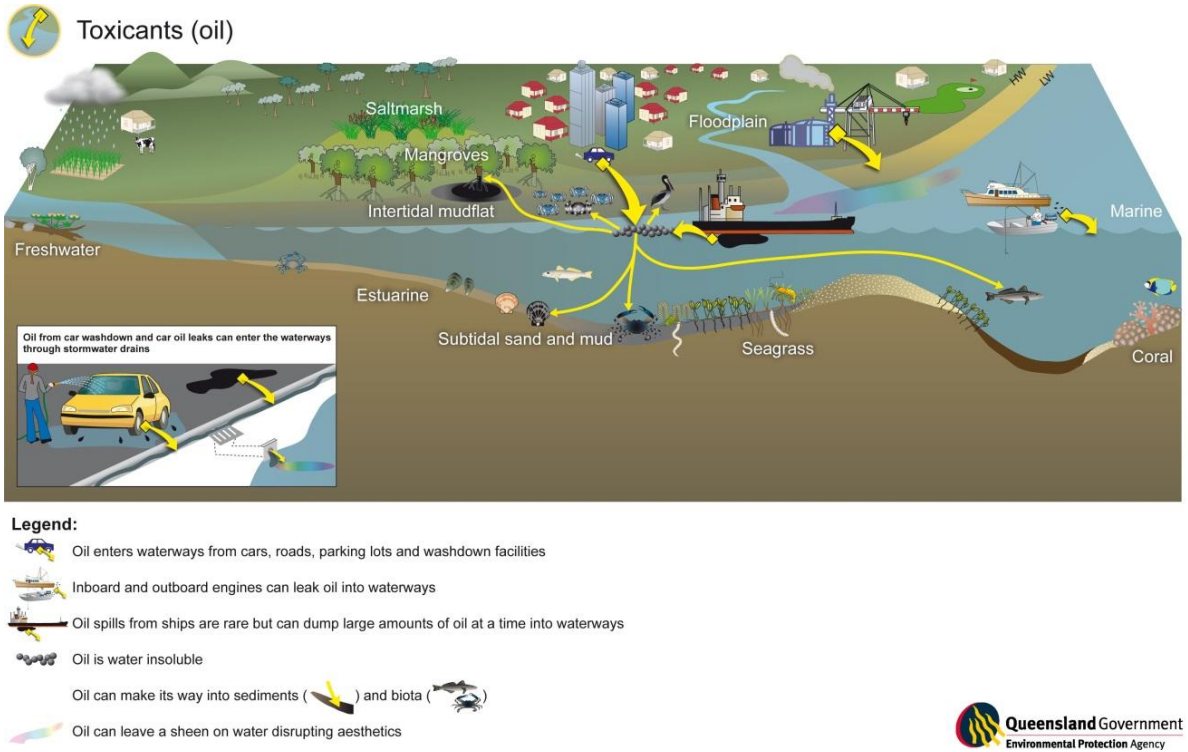



# Миграция и трансформация токсических веществ

Эта общая информация конкретизируется по данным физико-химического мониторинга, устанавливающего реальное содержание токсического вещества в отдельных компонентах экосистемы.

Процессы, определяющие это содержание условно можно разделить <u>на 3 группы</u>:

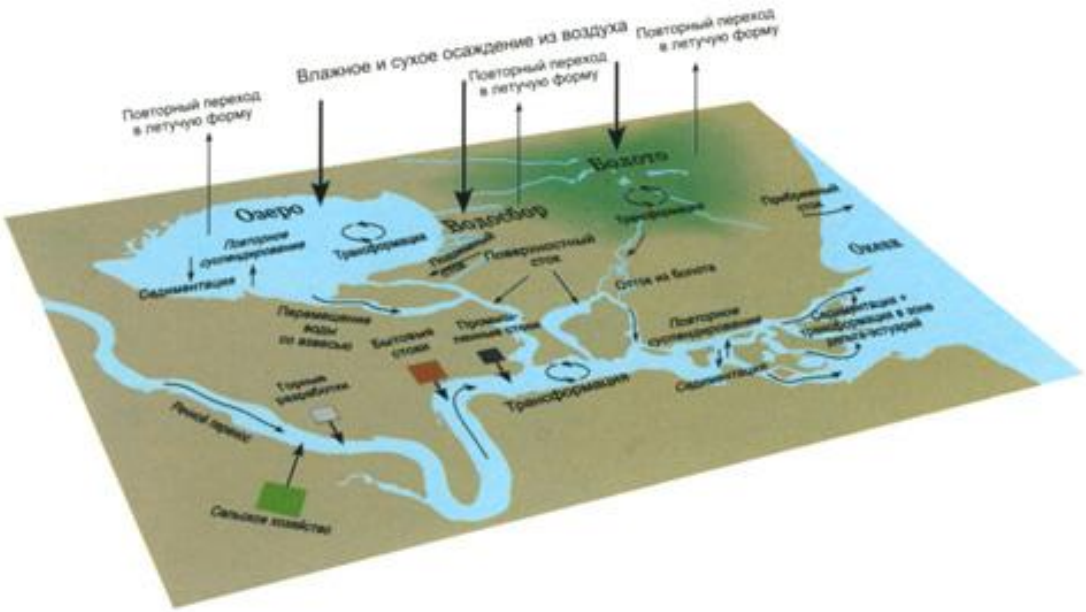
1) Физические процессы;
2) Химические процессы;
3) Биологические (биохимические) процессы.



# Физические процессы

К физическим процессам относится механический или конвективный перенос ЗВ, процессы диффузии, изменения агрегатного состояния и процессы поглощения веществ твердыми и жидкими телами.

Физические процессы играют определяющую роль в переносе ЗВ непосредственно после их поступления в окружающую среду, именно они определяют значение коэффициента разбавления, связывающего концентрацию вещества в газовом потоке или сточных водах и их концентрацию, устанавливающуюся в приземном атмосферном воздухе или природном водоеме.

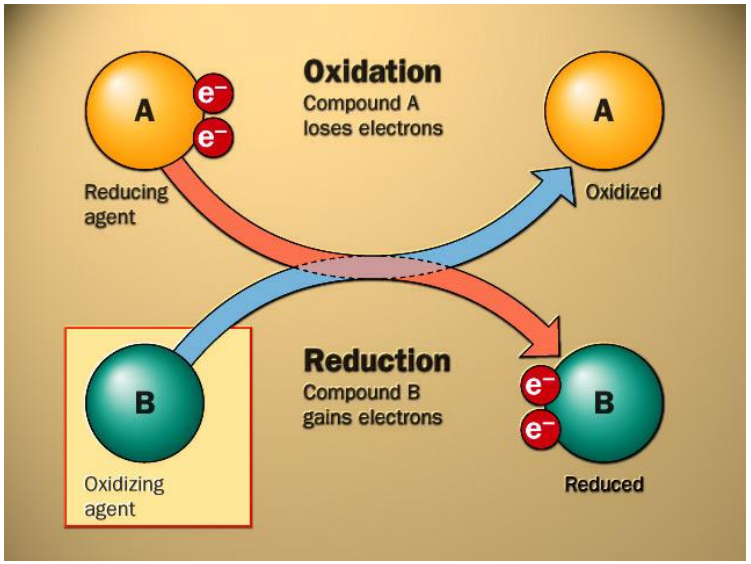


# Химические процессы

К химическим процессам относят реакции превращения ЗВ связанные с абиотическими факторами. Чаще превращения токсических веществ происходят в результате их окисления и гидролиза.

Реакции окисления носят свободнорадикальный характер и происходят с участием кислорода воздуха или промежуточных продуктов окисления других веществ (например, гидроперекиси, $NO_x$).

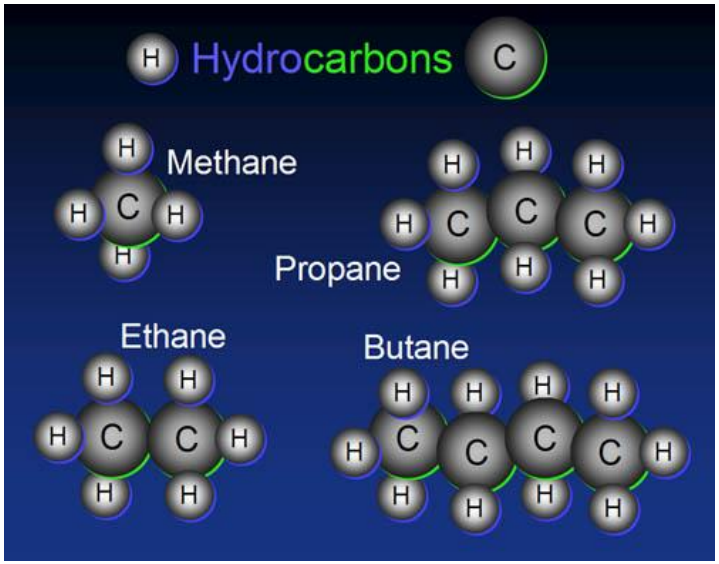
Как правило, окисление органических соединений снижает их токсичность, это связанно с тем, что в результате окисления увеличивается полярность соединений, и они медленнее проникают через защитные барьеры – липидные мембраны клетки.

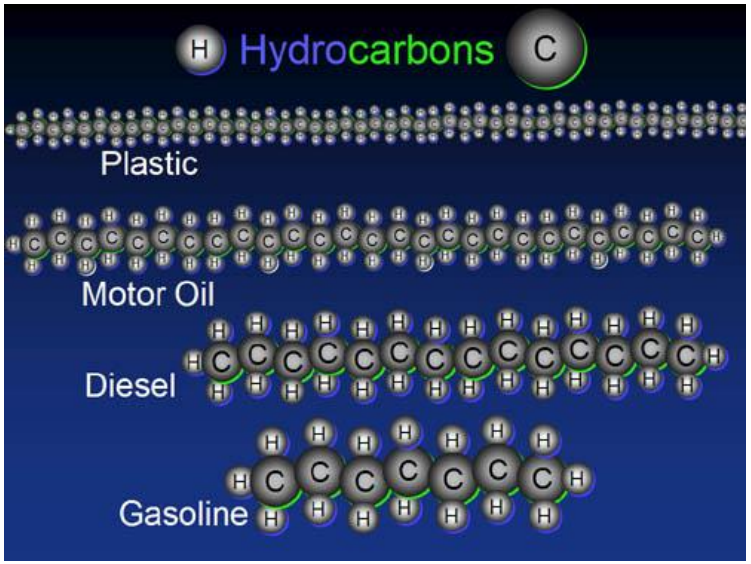


# Химические процессы

Скорость окисления органических соединений зависит от компонентного состава среды, например некоторые металлы каталитически ускоряют разрушение органических соединений, так же ведут себя некоторые олигомеры, выделяемые живыми организмами в процессе жизнедеятельности.

Это, например, летучие терпены, непредельные углеводороды и ряд других. Металлы устойчивы к действию кислорода воздуха, под его воздействием они переходят в окисленную форму, которая обладает пониженной подвижностью и биологической доступностью.

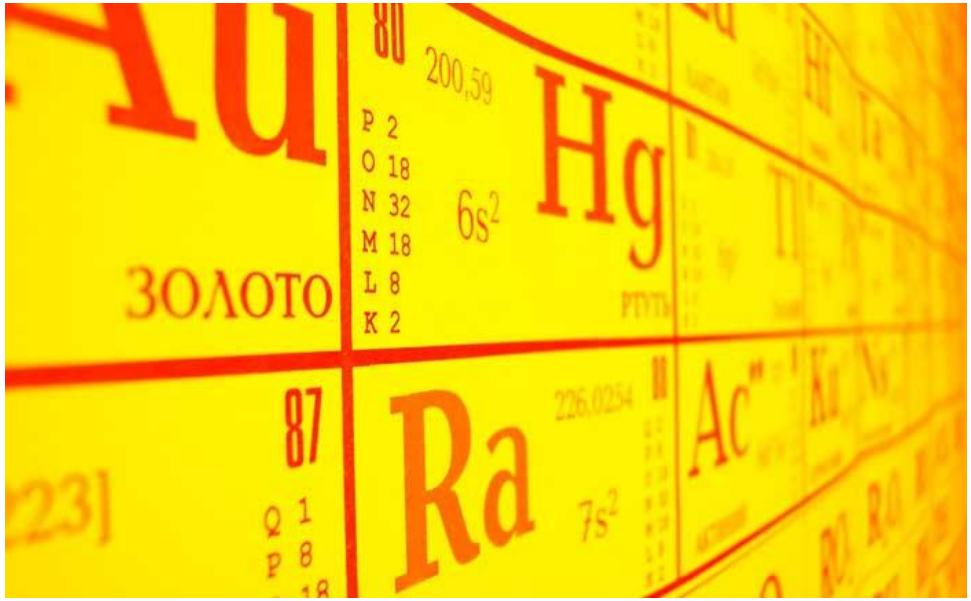


# Тяжелые металлы

Что считать тяжелыми металлами?

Есть несколько различных точек зрения. Некоторые трактовки исходят из плотности металлов, например, за них предлагается принимать вещества с металлическими свойствами с плотностью более 5 г/см$^3$, некоторые опираются на атомные номера элементов (например, больше 20) или их атомные веса (например, больше 40), а некоторые предлагают учитывать в первую очередь их токсические свойства.



# Тяжелые металлы

**4. Definitions based on other chemical properties**

- "Heavy metals" is the name of a range of very dense alloys used for radiation screening or balancing purpose. Densities range from 14.5 g/cm$^{-3}$ for 76 % W, 20 % Cu, 4 % Ni to 16.6 g/cm$^{-3}$ for 90 % W, 7 % Ni, 3 % Cu [40].
- Intermetallic compound of iron and tin ($FeSn_2$) formed in tinning pots which have become badly contaminated with iron. The compound tends to settle to the bottom of the pot as solid crystals and can be removed with a perforated ladle [41].
- Lead, zinc, and alkaline earth metals that react with fatty acids to form soaps. "Heavy metal soaps" are used in lubricating greases, paint dryers, and fungicides [42].
- Any of the metals that react readily with dithizone ($C_6H_5N$), e.g., zinc, copper, lead, etc. [43]
- Metallic elements of relatively high molecular weight [44].

**5. Definitions without a clear basis other than toxicity**

- Element commonly used in industry and generically toxic to animals and to aerobic and anaerobic processes, but not every one is dense nor entirely metallic. Includes As, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ni, Se, Zn [45].
- Outdated generic term referring to lead, cadmium, mercury, and some other elements which generally are relatively toxic in nature; recently, the term toxic elements has been used. The term also sometimes refers to compounds containing these elements [23].

**6. Nonchemical definitions used before 1936**

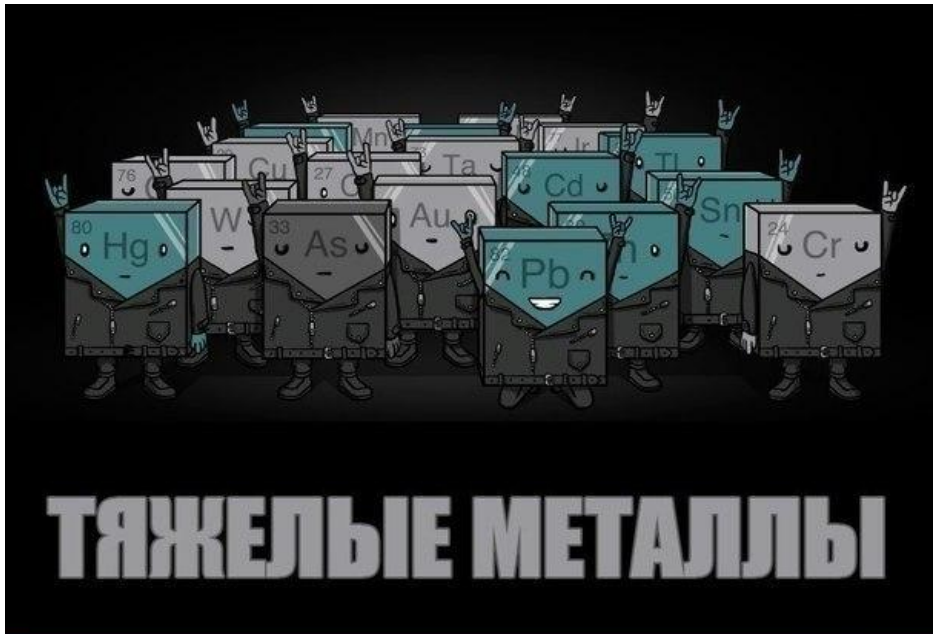
- Guns or shot of large size [7]
- Great ability [8]

*Duffus J.H. "Heavy metals" – a meaningless term? (IUPAC Technical Report), 2002*

# Тяжелые металлы

Стоит также упомянуть и о позиции, согласно которой упоминание термина «тяжелые металлы» вообще лишено смысла и вводит в заблуждение .

Оптимальным представляется выход, учитывающий комплексные свойства веществ,
без попытки упрощения. Таким образом, при включении в эту категорию учитываются не только химические и физические свойства элемента, но и его биологическая активность и токсичность, а также объём использования в хозяйственной деятельности



# Тяжелые металлы

Известен перечень опасных металлов (и полуметаллов), поступление которых в окружающую среду может спровоцировать неблагоприятные последствия и, следовательно, они не должны оставаться вне внимания программы мониторинга.

Например, в пределах Европейского союза есть ряд элементов вызывающих наибольшую обеспокоенность это As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Sn и Tl, поступление которых регулируется, в частности от мусоросжигания.

Некоторые из этих элементов в микроколичествах жизненно необходимы для человека (например, Co, Cu, Cr, Ni), в то время как другие являются канцерогенными или токсичными. Влияют на нервную систему (Hg, Pb, As), почки, печень (Hg, Pb, Cd, Cu) или кожу, кости или зубы (Ni, Cd, Cu, Cr).

# Заболевания связанные с тяжелыми металлами

| № | Элемент | Заболевание |
|---|---|---|
| 1. | Марганец | Отравление марганцем (марганизм) |
| 2. | Медь | Отравление медью |
| 3. | Кадмий | Итай-итай |
| 4. | Свинец | Сатурнизм |
| 5. | Ртуть | Минамата, меркуриализм |
| 6. | Бериллий | Бериллиоз |
| 7. | Серебро | Аргироз |

# Отравление марганцем

Отравление марганцем обычно связано с хроническим поступлением его в организм через дыхательные пути, пищеварительный тракт либо в виде примеси наркотических средств. Впервые «**марганизм**» был описан в 1837 году Джеймсом Купером.

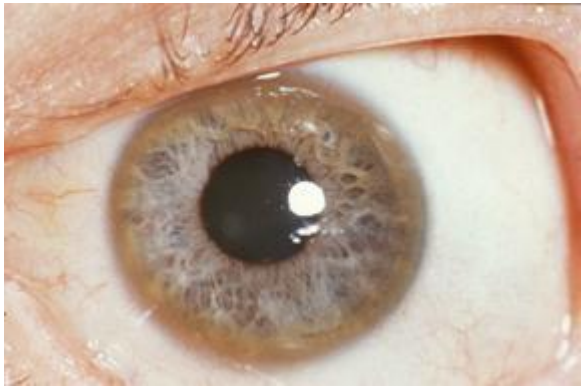
Головной мозг наиболее чувствителен к избытку марганца, поэтому уже на начальных стадиях отмечается замедленная реакция, раздражительность, перемены настроения, компульсии. Более длительное влияние марганца приводит к развитию паркинсонизма, при этом иногда ставится ошибочный диагноз «болезнь Паркинсона».

Группа риска - сварщики

# Отравление медью

Медь входит в состав ряда важных ферментов, принимающих участие в окислительно-восстановительных реакциях (цитохромоксидазы, аминооксидазы).

<u>В избыточных количествах</u> медь оказывает токсическое действие. При попадании в организм с пищей, содержащей более 50 мкг/кг, наблюдаются характерные признаки отравления - металлический вкус во рту, неукротимая рвота, боли в животе.
При поступлении в меньших количествах медь накапливается в печени, что вызывает физиологические расстройства в организме - тошноту, рвоту, желудочную боль

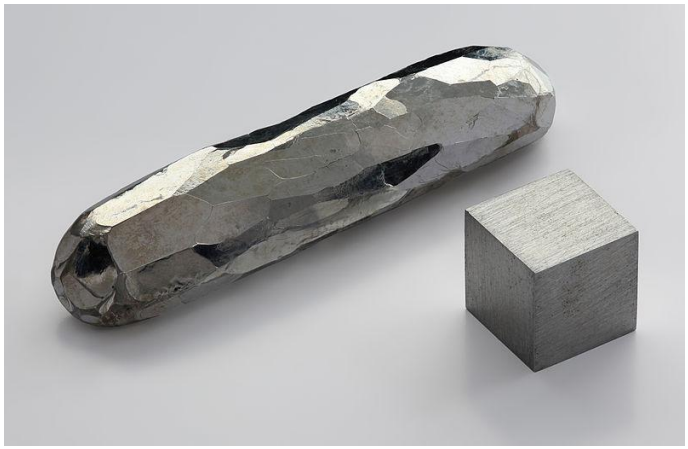


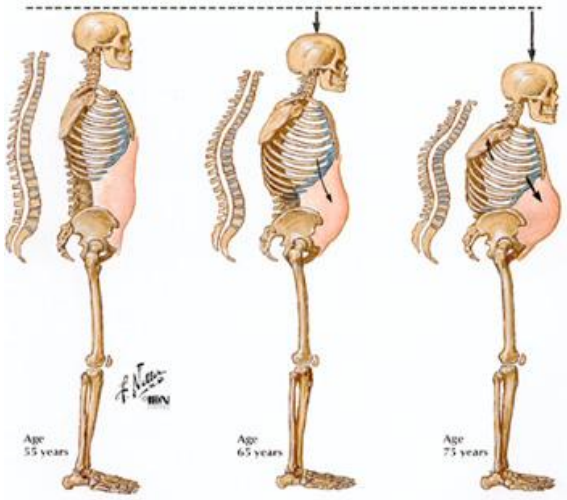
Кольца Кайзера–Флейшера — желтовато-зелёная или зеленовато-коричневая пигментация по периферии роговицы. Обнаруживаются при хроническом отравлении медью (например, при кормлении детей молоком, нагретым в медной посуде или при употреблении воды с повышенным содержанием меди).

# Отравление кадмием

Болезнь **итай-итай** – хроническая интоксикация солями кадмия, которая впервые была отмечена в 1950 году в японской префектуре Тояма. Хроническая интоксикация солями кадмия приводила не только к нестерпимым болям в суставах и позвоночнике, но и к остеомаляции и почечной недостаточности, которая часто заканчивалась смертью.

Одним из основных симптомов отравления солями кадмия является остеомаляция, очень сильная боль в костях, суставах и позвоночнике, гипотония и гипотрофия мышц, патологические переломы и деформации костей. Также у больных появляется кашель и анемия. Самым грозным осложнением является почечная недостаточность, которая приводит к смерти больного.





# Отравление свинцом

Болезнь **сатурнизм** — наиболее распространенный вид отравлений тяжелыми металлами. Свинец, как правило, попадает в организм человека при вдыхании свинецсодержащей пыли, копоти и паров, что вызывает психотропное, нейротоксическое и гематотоксическое действия.

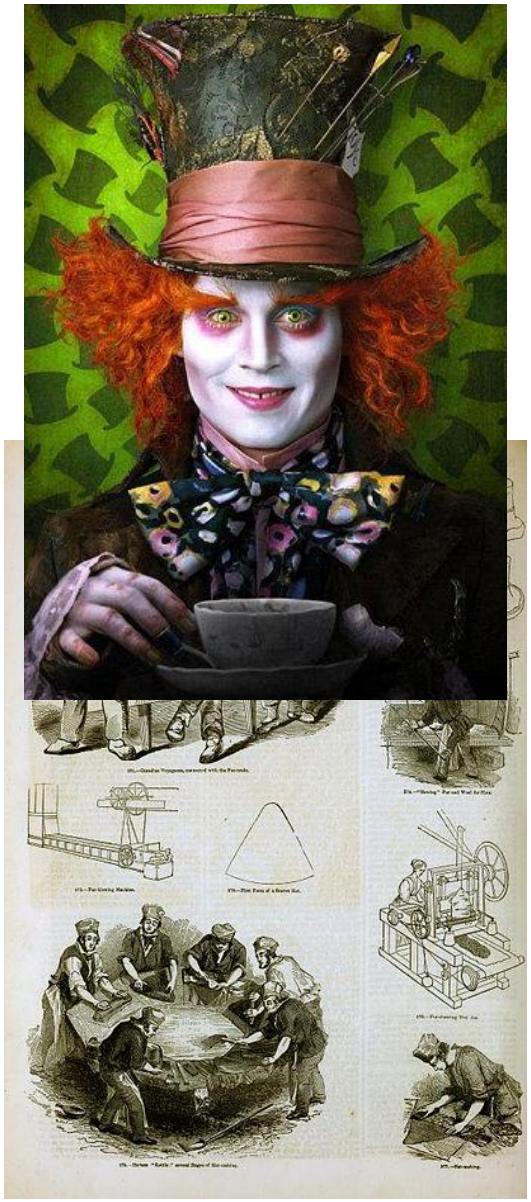
Попадая в организм, органические соединения металла превращаются в неорганические, оказывая таким образом симптомы хронической интоксикации. Характеризуется отравление поражением всех отделов головного мозга.

Рентгенография.
Характерное изменение кости
при отравлении свинцом.

# Отравление ртутью

**<u>Меркуриализм</u>** – отравление организма при хроническом воздействии паров ртути и её соединений.

Имя «Безумный шляпник» (Mad Hatter) – персонажа из «Приключений Алисы в стране чудес» Льюиса Кэрролла обязано своим происхождением английской поговорке «безумен, как шляпник» («mad as a hatter»).
Поскольку в процессе выделки фетра, для изготовления шляп, применялась ртуть, шляпники вынуждены были вдыхать её пары.
Шляпники и работники фабрик часто страдали от ртутного отравления, так как пары ртути вредили нервной системе, вызывая такие симптомы, как спутанная речь и искажение зрения. Часто это приводило к ранней смерти.



# Отравление ртутью

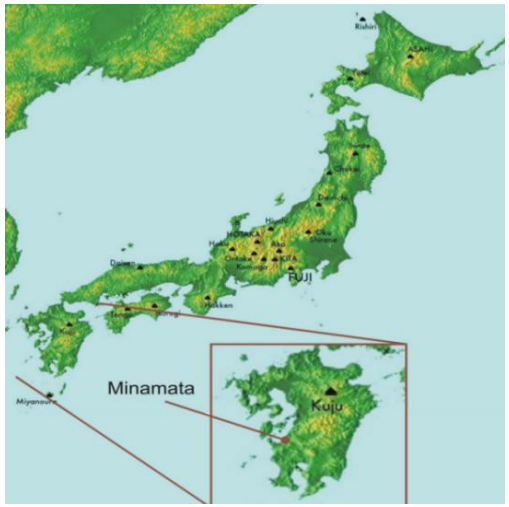
Болезнь **минамата** — синдром, вызываемый отравлением органическими соединениями ртути, преимущественно **метилртутью**. Была впервые обнаружена в Японии, в префектуре Кумамото в городе Минамата в 1956 году.

Симптомы включают нарушение моторики, парестезию в конечностях, ослабление зрения и слуха, а в тяжёлых случаях — паралич и нарушение сознания, завершающиеся летальным исходом.

Причиной возникновения болезни послужил продолжительный выброс компанией «Chisso» в воду залива Минамата ртути, которую донные микроорганизмы в своём метаболизме преобразовывали в метилртуть. Это соединение ещё более токсично и, как и ртуть, склонно накапливаться в организмах, в результате чего концентрация этого вещества в тканях организмов возрастает с повышением их положения в пищевой цепочке.

Так, в рыбе в заливе Минамата содержание метилртути составляло от 8 до 36 мг/кг, в устрицах — до 85 мг/кг, в то время как в воде её содержалось не более 0,68 мг/л.

$[CH_3Hg]^+$



# Отравление бериллием

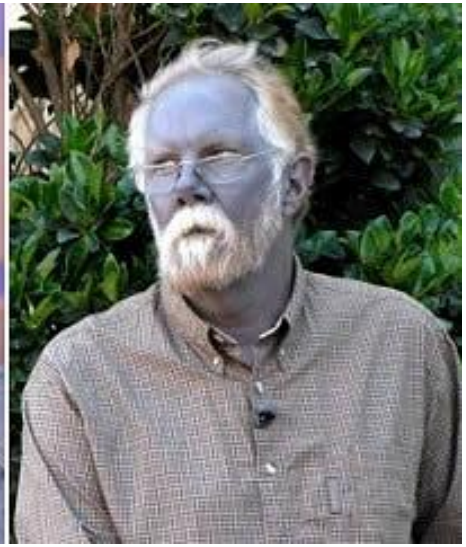
**Бериллиоз** — профессиональное заболевание; воспаление соединительной ткани лёгких, вызванное вдыханием пыли или паров, которые содержат бериллий.

Обычно бериллиоз развивается постепенно; первые симптомы могут проявиться через 10-20 лет после контакта с бериллием. У некоторых людей болезнь развивается внезапно, обычно в форме воспаления соединительной ткани лёгких (пневмонита).
При остром бериллиозе начинаются кашель, затруднение и уменьшение глубины дыхания, боль в области груди, потеря в весе. Могут поражаться глаза и кожа. При хронической форме в лёгких начинается рост патологической ткани, лимфатические узлы увеличиваются, кашель и одышка развиваются постепенно. Если лёгкие значительно повреждены хроническим бериллиозом, возрастает нагрузка на сердце и создаются все условия для развития сердечной недостаточности.

# Отравление серебром

**Аргироз или аргирия** — болезнь, вызванная длительным отложением в организме серебра, его соединений или серебряной пыли. Характеризуется необратимой сильной пигментацией кожи: которая принимает серебристый или синевато-серый оттенок. Способов лечения не существует, хотя ограниченно может помочь лазерная терапия или дермабразия.

Аргироз часто возникает из-за длительного приёма препаратов, содержащих серебро: протеинат серебра и некоторых косметических средств, основанных на серебре. Были отмечены случаи аргироза у рабочих, занятых в производстве и обработке серебра.



# Биологические процессы

Биологические процессы включают процессы трансформации и накопления ЗВ в живом организме, а также химические реакции с ЗВ, протекающие с участием продуктов жизнедеятельности вне организма.

Биологические реакции играют важную роль и обычно обуславливают ту или иную биологическую активность ЗВ.

Часто не представляется возможным разделить химическую и биологическую составляющую в трансформации ЗВ. Для тех же тяжелых металлов реакция гидролиза – химический процесс, но окисление и комплексообразование часто происходит под действием ферментов или продуктов метаболизма живых организмов.

# Биотрансформация загрязняющих веществ

Любой живой организм реагирует на поступление извне чужеродного вещества или избыток привычного. Реакция может быть разной.

Можно условно разделить все биологические процессы на три группы, это:

1) Процессы **токсикации** – нарушения жизненных функций в результате поступления ЗВ в живой организм.
2) Процессы биологической **изоляции** устойчивых ЗВ.
3) Процессы **деструкции** неустойчивых ЗВ.

- **Детоксикация / деструкция**
- **Изоляция / накопление**
- **Токсикация**

# Токсикация

**Токсичность** – можно определить как свойство (способность) химических веществ, действуя на биологические системы немеханическим путем, вызывать их повреждение или гибель, или, применительно к организму человека, – способность вызывать нарушение работоспособности, заболевание или гибель.

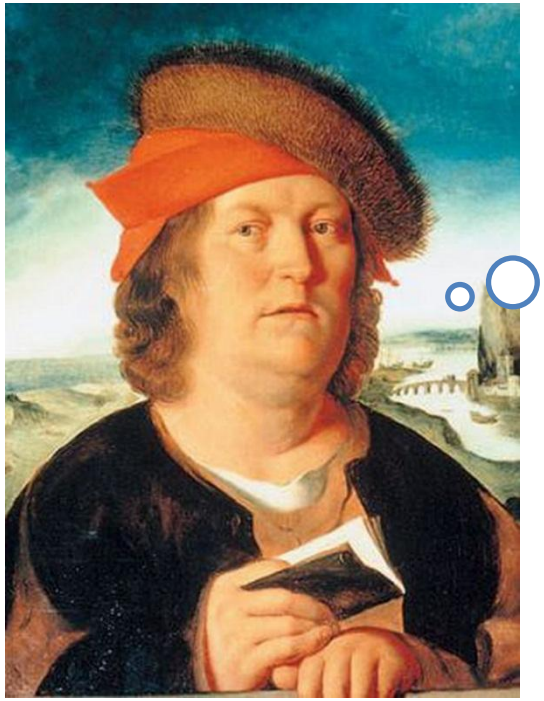
Вещества существенно различаются по токсичности. Чем в меньшем количестве вещество способно вызывать повреждение организма, тем оно токсичнее.

| Вещество | Источник | Токсичность ($ЛД_{50}$) мкг/кг |
|---|---|---|
| Ботулотоксин | Бактерии | 0,0003 |
| Тетанотоксин | Бактерии | 0,001 |
| Батрахотоксин | Земноводные | 2 |
| Тайпоксин | Змеи | 2 |
| Рицин | Растения | 3 |
| Тетродотоксин | Рыбы | 8 |
| Сакситоксин | Простейшие | 9 |
| Латротоксин | Пауки | 10 |
| Бунгаротоксин | Змеи | 14 |
| Диоксин | Синтетический | 200 |
| Курарин | Растения | 500 |
| ДФФ | Синтетический | 1 000 |
| Иприт | Синтетический | 8 600 |
| Цианид натрия | Синтетический | 10 000 |
| Таллия сульфат | Соль | 35 000 |
| Атропин | Растения | 90 000 |
| Метанол | Синтетический | 1 000 000 |

# Токсикация

Теоретически не существует веществ, лишенных токсичности.

При тех или иных условиях, обнаружится биологический объект, реагирующий повреждением, нарушением функций, гибелью на действие вещества в определенных дозах. Токсичность веществ, полностью инертных в отношении биологических объектов, может быть количественно обозначена, как стремящаяся (но не равная) к нулю.

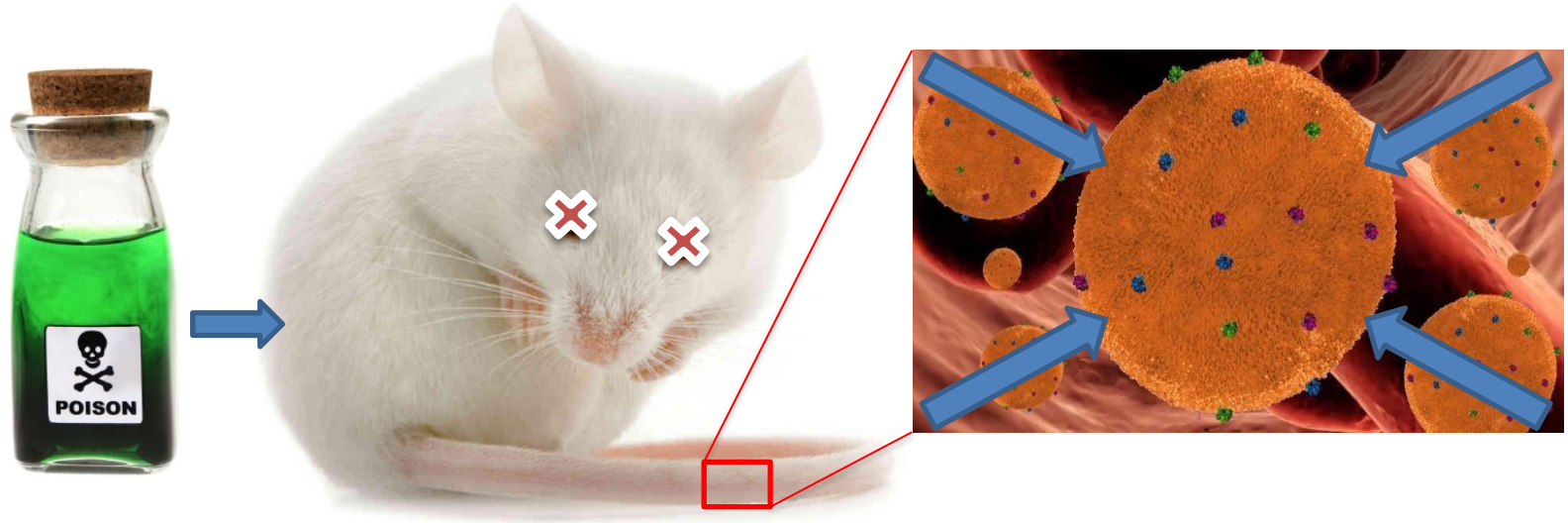


*«Всё есть яд, и ничто не лишено ядовитости; одна лишь доза делает яд незаметным»*

Филипп Ауреол Теофраст Бомбаст фон Гогенхайм (1493-1541)

# Токсикация

- Действие веществ, приводящее к нарушению функций биологических систем, называется <u>токсическим действием</u>.
- В основе токсического действия лежит <u>взаимодействие</u> вещества с биологическим объектом <u>на молекулярном уровне</u>.
- Химизм взаимодействия токсиканта и биологического объекта на молекулярном уровне <u>называется механизмом токсического действия</u>.
- Следствием токсического действия веществ на биологические системы является <u>развитие токсического процесса</u>.

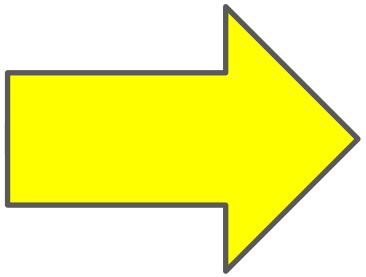


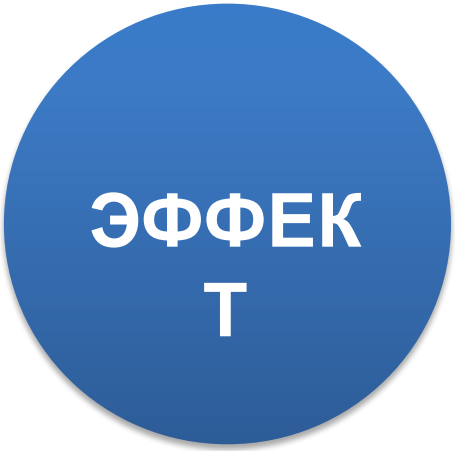
# Токсикация

Токсические процессы, выявляемые на уровне организма, можно отнести к одной из следующих групп:

## 1. Процессы, формирующиеся по пороговому принципу

Причинно-следственная связь между фактом действия вещества и развитием процесса носит безусловный характер: при действии веществ в дозах ниже определенных уровней токсический процесс не развивается; при достижении определенной дозы процесс развивается непременно.
Зависимость «доза-эффект» прослеживается на уровне каждого отдельного организма, при этом, чем больше доза, тем значительнее проявления токсического процесса.





# Токсикация

## 2. Процессы, развивающиеся по беспороговому принципу

Причинно-следственные связи между фактом действия вещества и развитием процесса носят вероятностный характер: вероятность формирования эффекта сохраняется при действии на организм даже одной молекулы токсиканта, вместе с тем у отдельных организмов процесс может и не развиться не смотря на значительное увеличение дозы вещества (близкие смертельным).

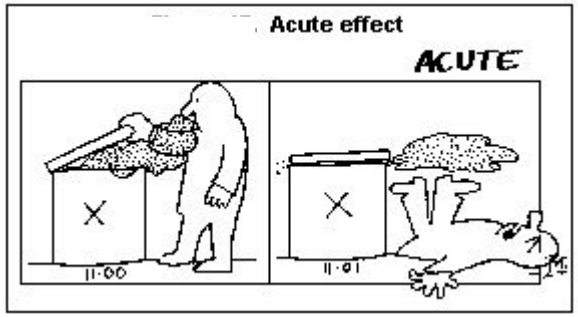
Дозовая зависимость выраженности повреждающего действия, как правило, прослеживается на уровне популяции – чем больше доза, тем у большей части особей испытуемой (исследуемой) группы регистрируется эффект. К таким токсическим процессам относятся: мутагенез, канцерогенез, тератогенез, отчасти нарушение репродуктивных функций и т.д.

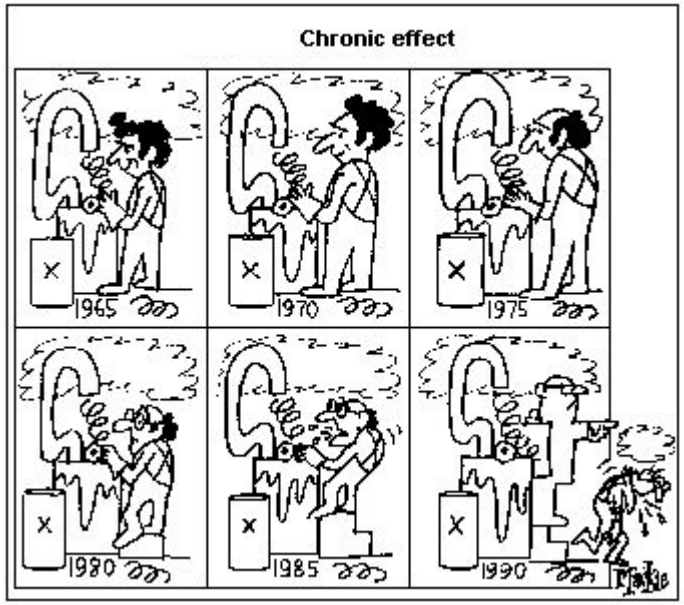
# Токсикация

В зависимости от продолжительности взаимодействия химического вещества и организма интоксикации могут быть <u>острыми, хроническими</u>.

**Острой** называется интоксикация, развивающаяся в результате однократного или повторного действия веществ в течение ограниченного периода времени (как правило, до нескольких суток).

**Хронической** называется интоксикация, развивающаяся в результате продолжительного (иногда годы) действия токсиканта.

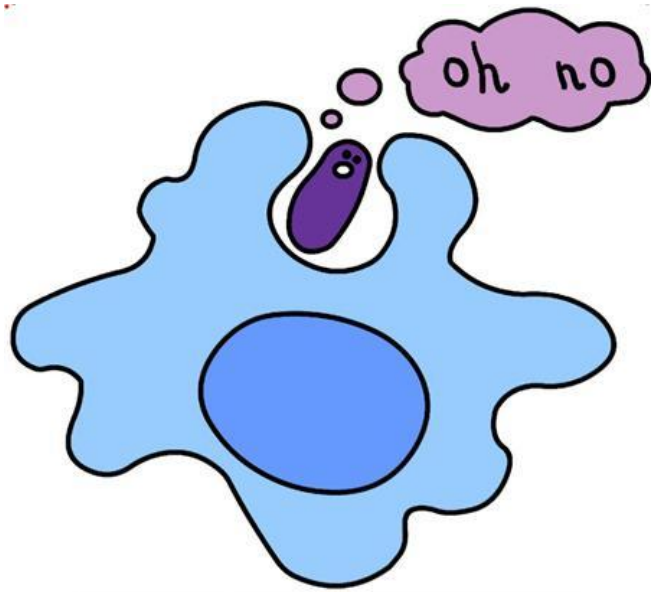


# Изоляция загрязняющих веществ

**Изоляция** чужеродного вещества либо внутри организма, либо вовне с продуктами жизнедеятельности. Такой путь характерен для высоко устойчивых соединений, малоактивных в обычных химических и биохимических процессах.

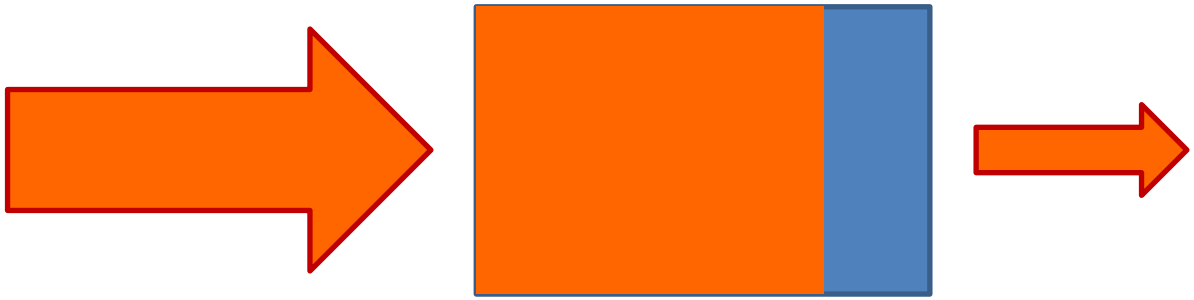
**Ускоренное выведение** – один из способов понижения концентрации вредного вещества. Часто выделение без изменения химической природы используется для профилактики вероятного токсического действия отдельных соединений у некоторых групп работников, связанных с профессиональным риском.



# Накопление загрязняющих веществ

**<u>Биоаккумуляция</u>** (bioaccumulation)* – нарастающее увеличение количества вещества в организме (части организма), происходящее из-за того, что скорость поступления вещества превосходит способность организма к его удалению из тела.

Биоаккумуляция – обобщающий термин, означающий накопления веществ, таких как, например ДДТ, метилированная ртуть и др. в организме



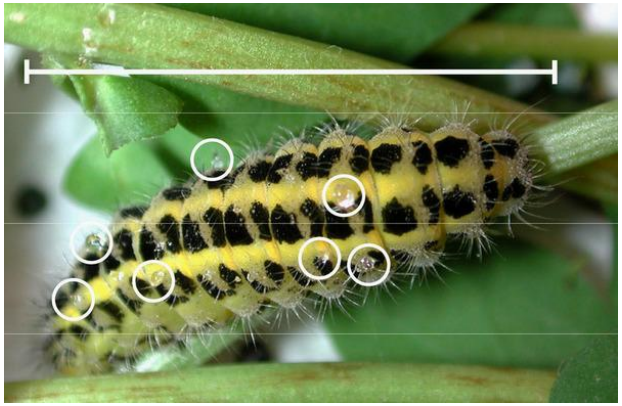
*Glossary of terms used in toxicology, 2nd edition (IUPAC Recommendations 2007)*

# Накопление загрязняющих веществ

Биоаккумуляцию можно рассматривать как биохимическую адаптацию к токсическому веществу, которая выражается в его связывании в малоподвижную и значит биологически малоактивную форму.

Например, некоторые гусеницы обладают способностью накапливать защитные соединения, вырабатываемые растениями против них. Такая форма химической защиты характерна для некоторых растений пастбищ. Они вырабатывают производные сенильной кислоты, которые под действием кислот желудочно-кишечного тракта распадаются с выделением ядовитых соединений. Гусеницы, поедая эти растения, защищаются с помощью пассивной изоляции токсинов. Стенки их вакуолей препятствуют поступлению внутрь ядовитых кислот. При последующем превращении в бабочку, гусеница сохраняет запас гликозидов и становится несъедобной для хищников.

*Данаида монарх - Danaus plexippus*

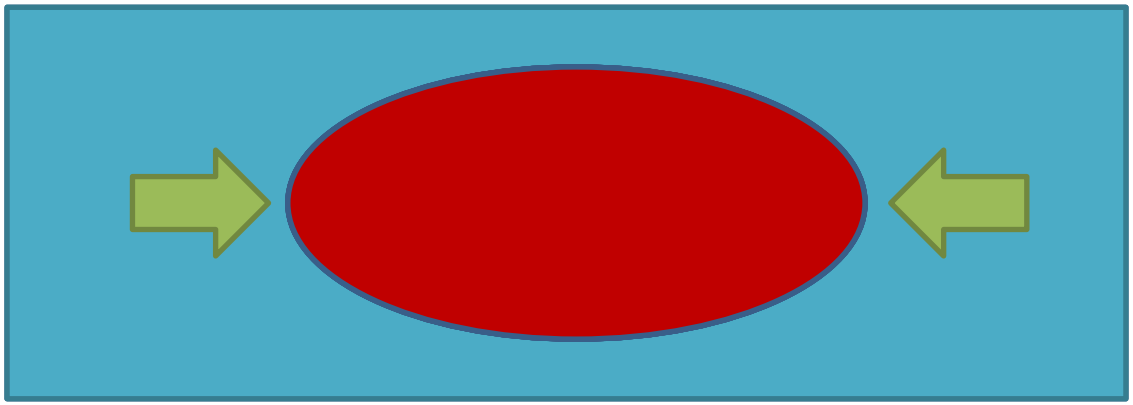


*Личинка бабочки Zygaena*

# Накопление загрязняющих веществ

Связанный с биоаккумуляцией термин – **<u>биоконцентрирование</u>** (bioconcentration)* – процесс, приводящий к более высокой концентрации вещества в организме,
по сравнению с окружающей средой в которой он находится.

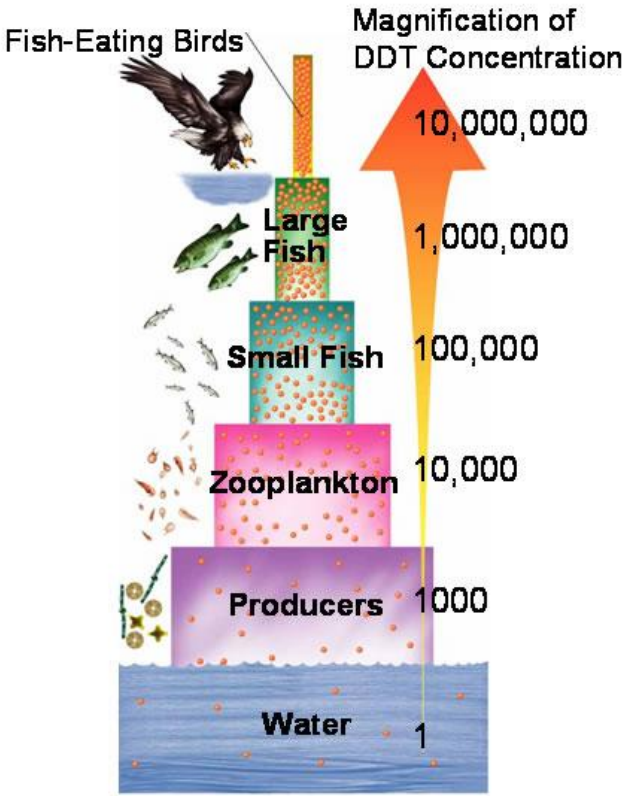
Однако в отличие от биоаккумуляции, этот процесс ограничивается лишь поступлением вещества через воду.

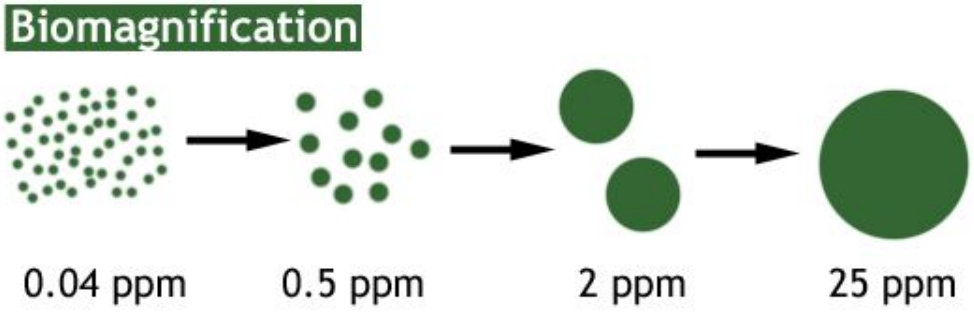


**Glossary of terms used in toxicology, 2nd edition (IUPAC Recommendations 2007)*

# Накопление загрязняющих веществ

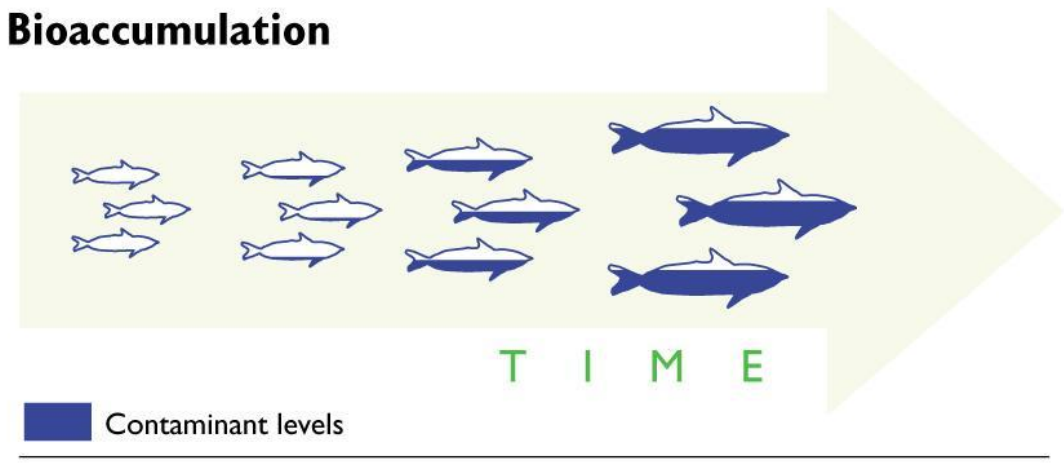
**Биомагнификация** (также известная как биологическое усиление, или биологическое увеличение) – последовательность процессов в экосистеме, в ходе которых наиболее высокие концентрации веществ в организмах наблюдаются на более высоких трофических уровнях (синоним – экологическая магнификация). Возрастание концентрации вещества, например, пестицида происходит по пищевым цепям.

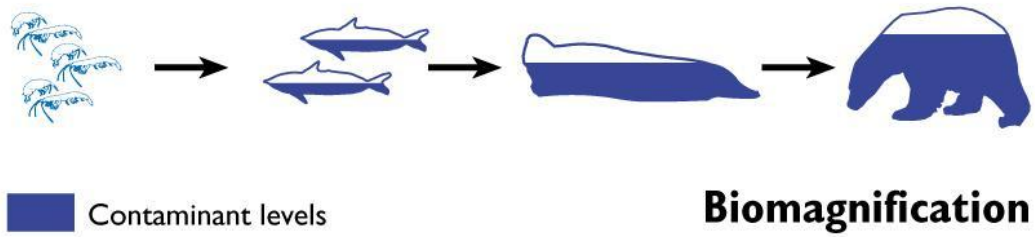


# Накопление загрязняющих веществ

Таким образом, **биоконцентрирование и биоаккумуляция** наблюдаются в пределах отдельного организма, а **биомагнификация** прослеживается в пищевых взаимодействиях на различных трофических уровнях.



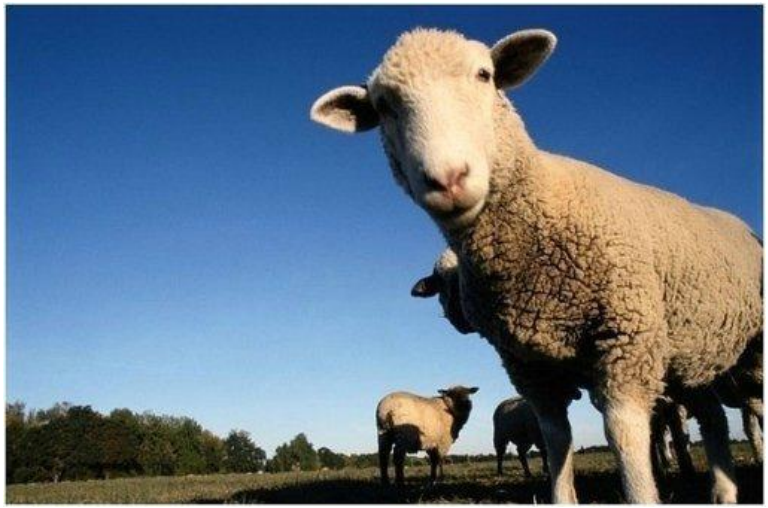
# Биотрансформация загрязняющих веществ – детоксикация

**<u>Детоксикация</u>**, т.е. обезвреживание токсических соединений.

Под этим подразумевается их включение в биохимические процессы с образованием менее токсичных продуктов. Существует много процессов детоксикации,
а при постоянном присутствии токсического вещества в окружающей среде, реакции детоксикации могут носить очень специфический характер.

Например, некоторые пастбищные животные нейтрализуют действие сенильной кислоты, переводя ее в роданиды:

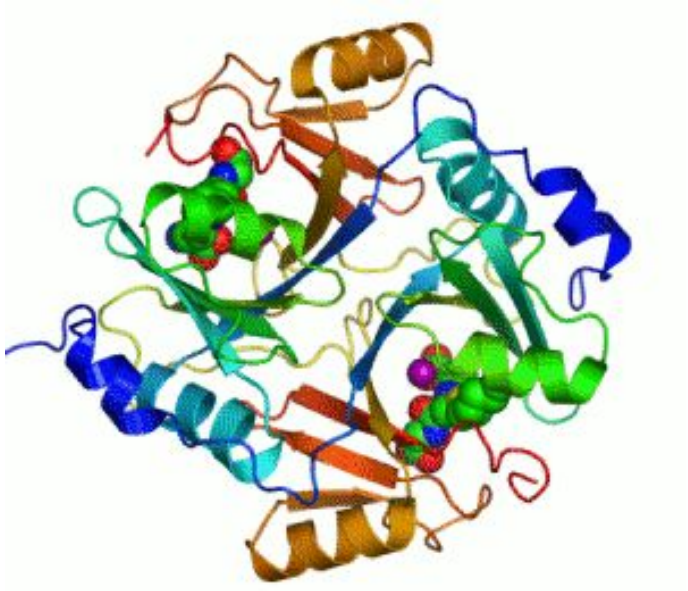
$$8CN^- + S_8 \rightarrow 8SCN^-$$

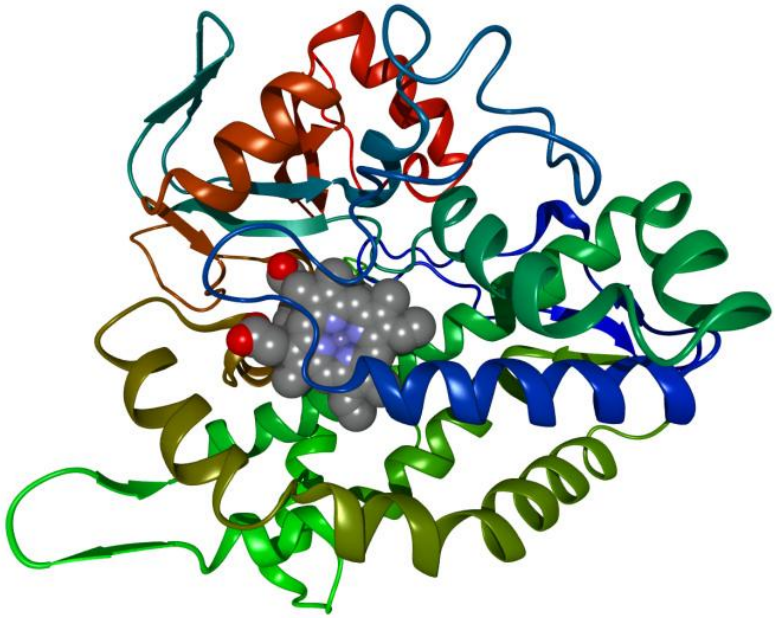


# Детоксикация

Кроме высокоспециализированных методов детоксикации есть и общие биохимические процессы, предназначенные для защиты от токсических веществ – защитные ферменты, осуществляющие функции окислительной деструкции.

Стратегия деструкции в целом совпадает со стратегией максимально быстрого выведения ЗВ из живых организмов. Деструкция увеличивает растворимость токсических веществ в воде и снижает их растворимость в жировых тканях и липидах мембран. В итоге ЗВ теряют способность проникать через биологические мембраны, выделяются в биологические жидкости и выводятся с продуктами жизнедеятельности из организма.



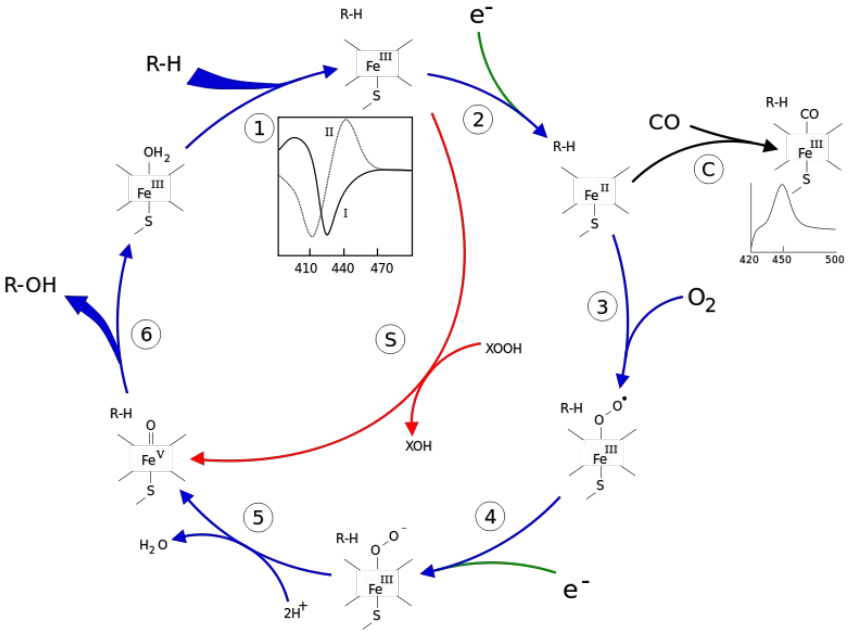


# Детоксикация

Например, цитохромы P450 осуществляют реакции окисления огромного количества органических соединений и являются важнейшими элементами системы детоксикации ксенобиотиков.

Цитохромы P450 локализованы в мембранах эндоплазматического ретикулума (особенно в печени), в наружных мембранах митохондрий и в кариолемме. Кроме того, цитохромы участвуют и в обычных физиологических реакциях живого организма, например в синтезе холестерола и половых гормонов.

Аналогичная функция и у других защитных ферментов, пример – **оксидазы со смешанными функциями** (катализируют восстановление одного атома молекулы $O_2$ с образованием воды и включение другого атома кислорода в окисляемое вещество).

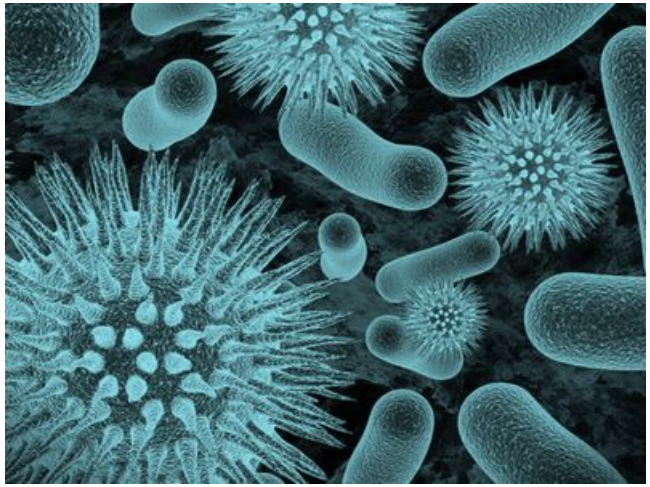


# Летальный синтез

**Летальный синтез** – так называются биохимические процессы трансформации чужеродных соединений, в результате которых их токсичность увеличивается.

Как правило, но не всегда, летальный синтез связан с токсическим действием **ксенобиотиков** – веществ не присущих природной среде, появляющихся в ней в результате хозяйственной деятельности человека.

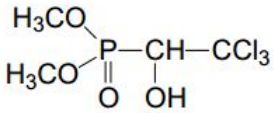
Ксенобиотики не имеют специфических механизмов детоксикации, т.к. биохимическая эволюция требует более продолжительного времени, чем весь период индустриального развития человечества. Такие вещества подвергаются трансформации обычными защитными системами и иногда эти обычные способы детоксикации приводят к противоположному результату.



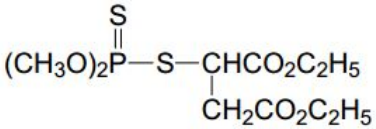
# Летальный синтез

**Пример: действие пестицидов второго поколения.**

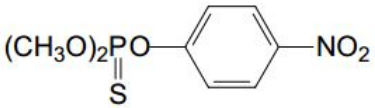
На смену персистентным хлорорганическим пестицидам в1960-е годы пришли менее стойкие в природных условиях фосфорорганические соединения (ФОС), которые как пестициды не уступали по своим инсектицидным свойствам ХОП. Однако их токсические свойства сравнимы с действием на организм других суперэкотоксикантов.



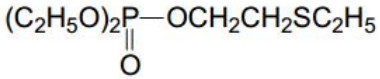

Хлорофос



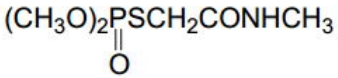

Карбофос



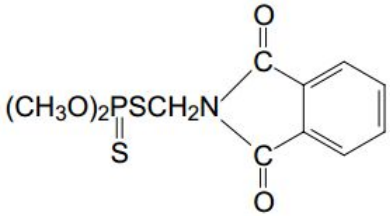

Метафос
(Метилпаратион)




Меркаптофос



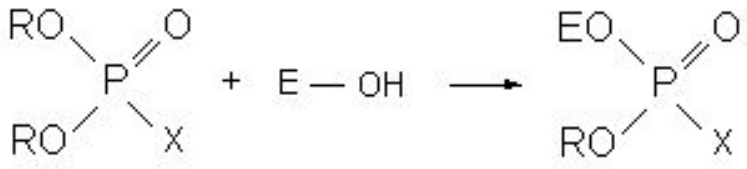

Фосфамид




Фталофос

# Летальный синтез

Многие органические производные фосфора обладают <u>инсектицидным действием</u>, оно связано со способностью этих соединений нарушать прохождение нервного импульса, за счет их <u>взаимодействия с ферментом холинэстеразой</u>.

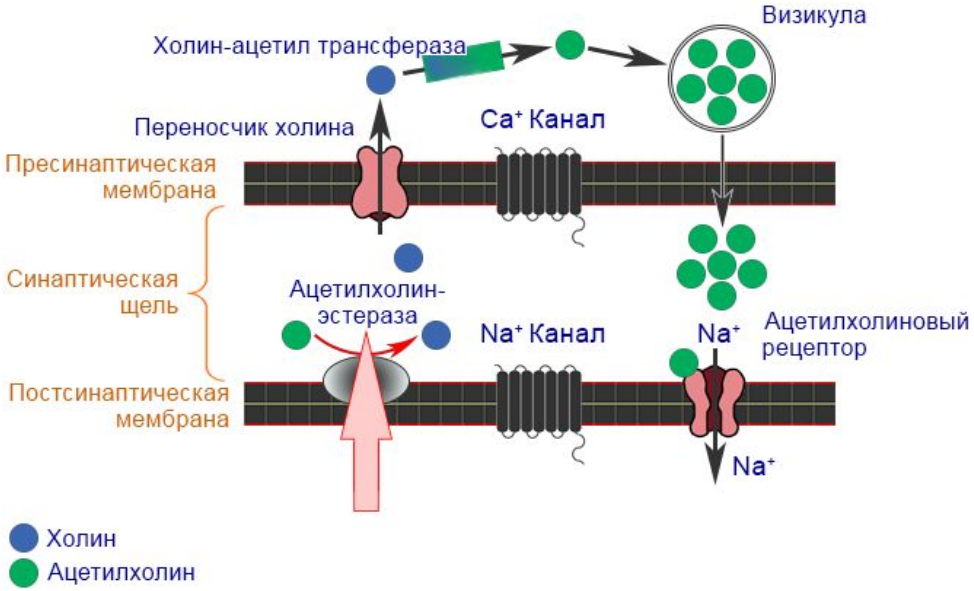


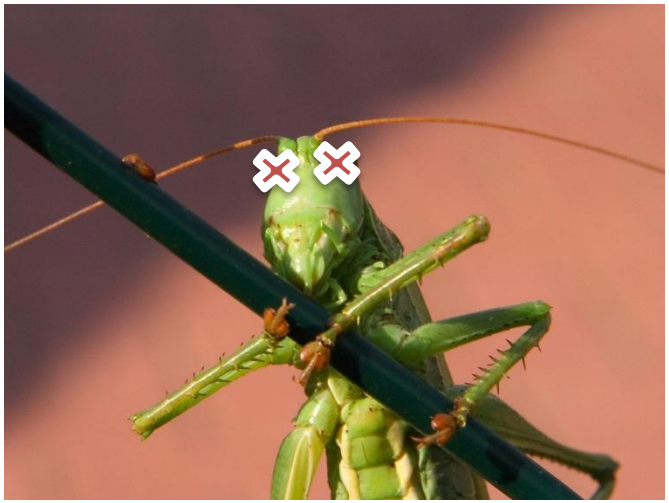

Фосфорорганические соединения блокируют гидроксильную группу в ферменте
и образуют устойчивое неактивное соединение.

# Летальный синтез

При стимуляции нейронов происходит выброс медиатора **ацетилхолина** в межсинаптическое пространство синапса, благодаря чему производится передача импульса к мышце или органу. В здоровом организме после передачи импульса ацетилхолин утилизируется ферментом **ацетилхолинестеразой**, в результате чего передача импульса прекращается.

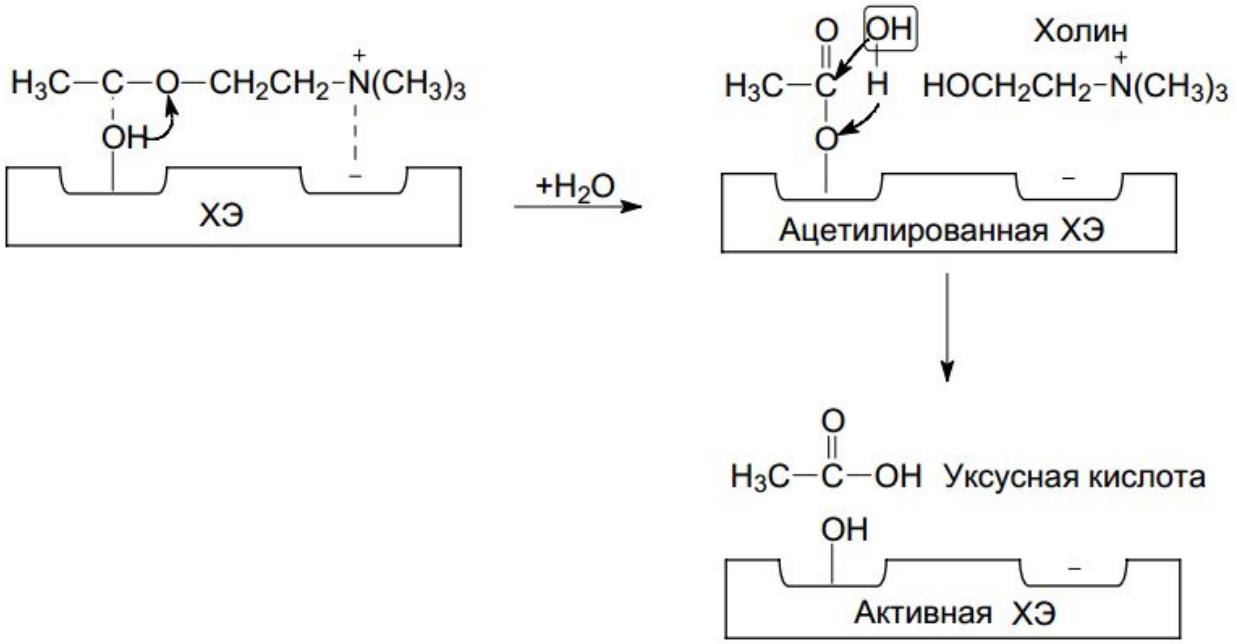
ФОС ингибирует фермент ацетилхолинэстеразу. В результате содержание ацетилхолина в межсинаптическом пространстве постоянно растёт, и импульсы непрерывно передаются, поддерживая все иннервируемые вегетативными и двигательными нервами органы в активном состоянии (состоянии секреции, либо напряжения) вплоть до их полного истощения.



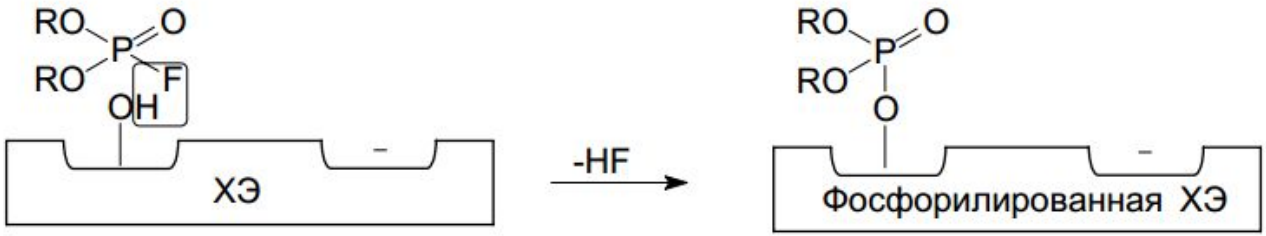



# Летальный синтез

Гидролиз ацетилхолина можно представить следующей схемой:



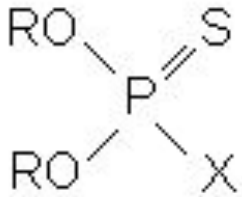

Фосфорорганические соединения блокируют ацетилхолинэстеразу:

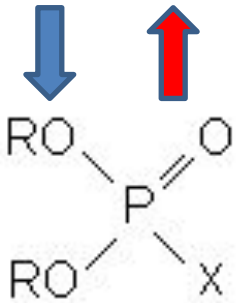


# Летальный синтез

Однако оказалось, что использование таких пестицидов не безопасно с точки зрения здоровья сельскохозяйственных рабочих. В 70-е годы число смертельных отравлений связанных с применением фосфорорганических пестицидов достигало
200 тысяч человек в год.

Поэтому стали использовать производные этих пестицидов, содержащих серу вместо кислорода. **<u>Тионовые ФОС</u>** (инсектициды второго поколения – метафос, бутифос, карбофос и др.) проявляют лишь слабое обратимое ингибирующее действие
на холинэстеразу





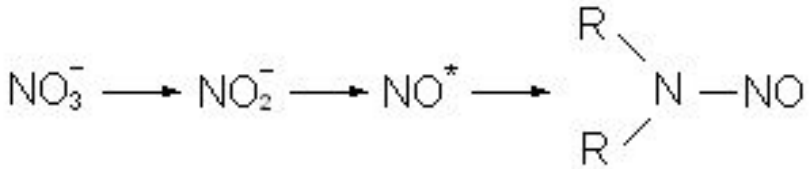

**x10 000 раз**

# Летальный синтез

**Пример: нитраты.**

Летальный синтез может быть также связан и с некоторыми природными соединениями, в том числе широко распространенными.

Например, нитраты ($NO^{3-}$) в организме человека и многих других млекопитающих при хроническом действии повышают риск онкологических заболеваний.
Это связано со следующей цепью происходящих реакций:



Нитрат под действием кишечной микрофлоры частично восстанавливается до нитрита, который может давать активный нитрозильный радикал, инициирующий многие свободнорадикальные реакции. В присутствии аминов этот радикал превращается в N-нитрозоамин, который обладает канцерогенными свойствами.

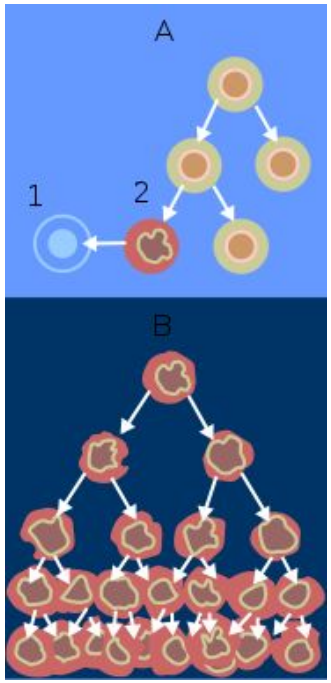
# Летальный синтез

Вторичные амины, содержащиеся в красках для волос, способны проникать в кожу головы и оставаться на волосах весьма длительное время.

Кроме того, они могут вступать в реакцию с табачным дымом или выхлопными газами, образуя мощное канцерогенное соединение – N-нитрозамины, вызывающие онкологические заболевания. Данное вещество запрещено использовать в косметике в чистом виде, однако оно способно образовываться путем химической реакции впоследствии.

# Канцерогенез

**<u>Злокачественное новообразование</u>** — заболевание, характеризующееся появлением бесконтрольно делящихся клеток, способных к инвазии в прилежащие ткани и метастазированию в отдаленные органы. Болезнь связана с нарушением пролиферации и дифференцировки клеток вследствие генетических нарушений.

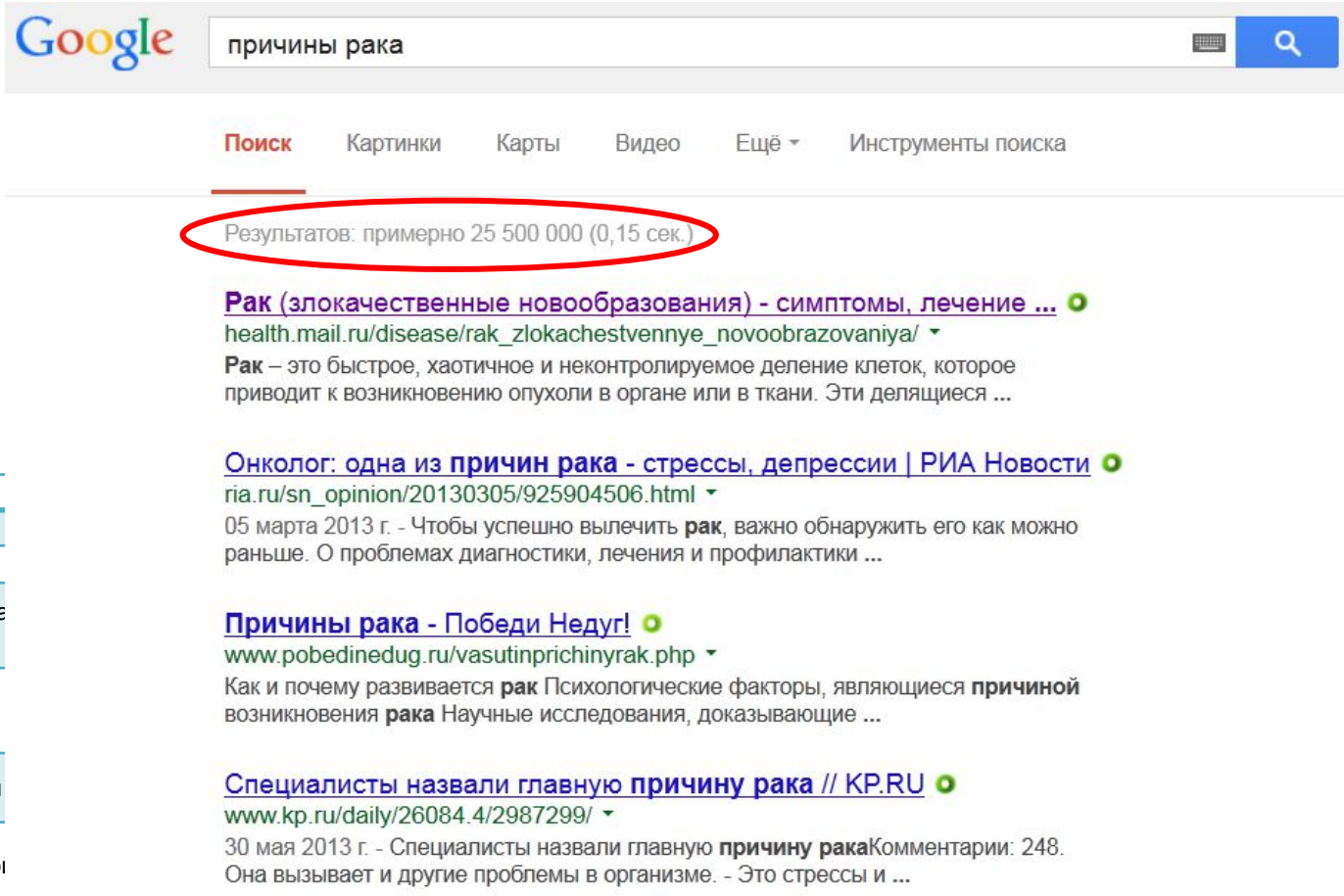



*Обычные клетки, если они повреждены, подвергаются апоптозу (А). Раковые клетки же апоптозу не подвергаются*

| **Злокачественные опухоли различаются по типу клеток, из которых они возникают:** | |
|---|---|
| Карцинома, или собственно рак | из эпителиальных клеток (например, рак предстательной железы, лёгких, молочной железы, прямой кишки). |
| Меланома | из меланоцитов |
| Саркома | из соединительной ткани, костей и мышц (мезенхима) |
| Лейкоз | из стволовых клеток костного мозга |
| Лимфома | из лимфатической ткани |
| Тератома | из зародышевых клеток |
| Глиома | из глиальных клеток |
| Хориокарцинома | из ткани плаценты |

# Канцерогенез

Существует много факторов способствующих развитию злокачественных новообразований



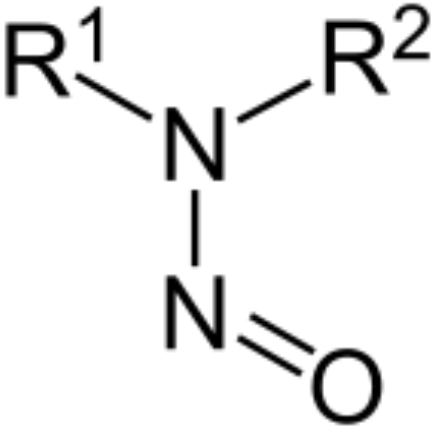

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | тность |
| предста<br>железа | | | | | | | 27 % |
| лёгкие | | | | | | | 15 % |
| прямая | | | | | | | 10 % |
| мочевоі | | | | | | | 6 % |
| меланома | 5 % | лейкоз | 4 % | неходжкинские лимфомы | 4 % | поджелудочная железа | 6 % |

# Летальный синтез – колбаса вызывает рак?

# Летальный синтез – колбаса вызывает рак?

Частое потребление красного мяса, а также и вообще любого переработанного мяса (колбаса, бекон и пр.) действительно связаны с повышенным риском рака, на сегодняшний день об этом можно говорить уверенно.
Умные люди из телевизора лукавят в частностях.

Мясо и колбаса являются канцерогенами вовсе не из-за добавок, как хочется думать диетологам. И не из-за плохого содержания животных.




Нитрозамины

# Канцерогенез

Нитрозамины в колбасе с нитритами образовываться могут.
А могут образовываться и внутри нашего организма. Могут образовываться в полезной рыбе без нитритов. Могут в натуральном соевом соусе, полученном с помощью натурального брожения. А еще они есть в пиве, сырах и молоке.

Там где есть нитраты/нитриты и белок, там получатся нитрозамины.

# Канцерогенез

Нитрозамины являются канцерогенами.

Необходимо избегать их излишнего употребления. Если говорить о еде, то примерно 20% (цифры 1981 года, сегодня этот показатель ниже) ежедневно съедаемых нитрозаминов человек усваивает из химически-мясных продуктов. Остальные проценты из вполне натуральной и полезной пищи.

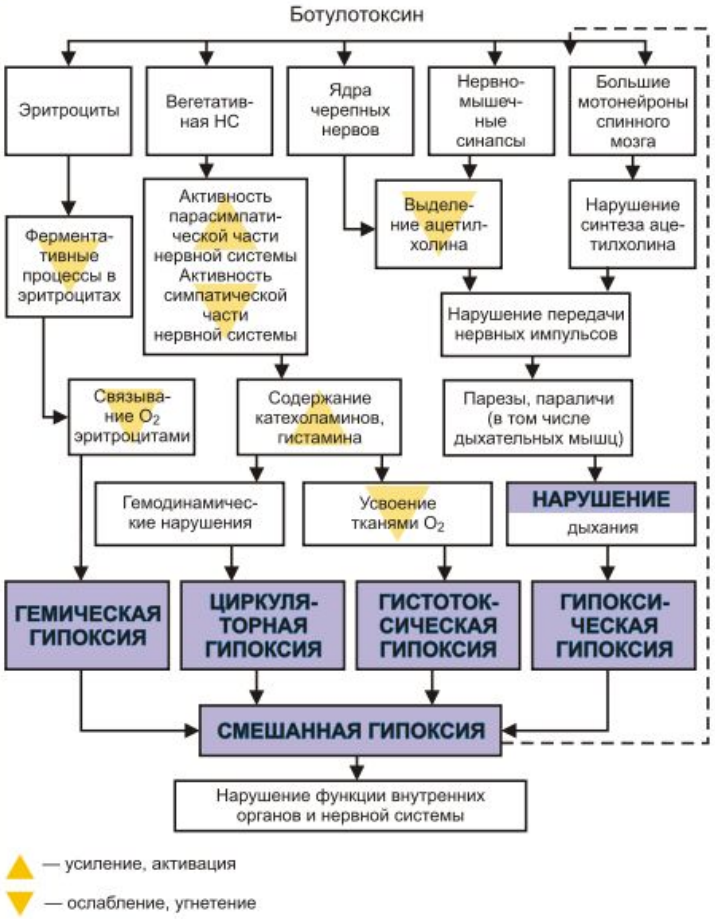
Курильщик с пачкой сигарет употребляет нитрозаминов в десятки раз больше, чем из всей еды вместе взятой.

Риск заработать рак, живя рядом с металлургическим комбинатом, в десять раз ниже, чем у простого курильщика.

# Канцерогенез

Пищевая промышленность за последние несколько десятков лет серьезно изменила подход к нитрозаминам в еде. Например, ограничила допустимую норму использования нитритов при приготовлении колбасы. Отказалась бы совсем, но совсем без нитритов нельзя из-за опасности развития ботулизма.

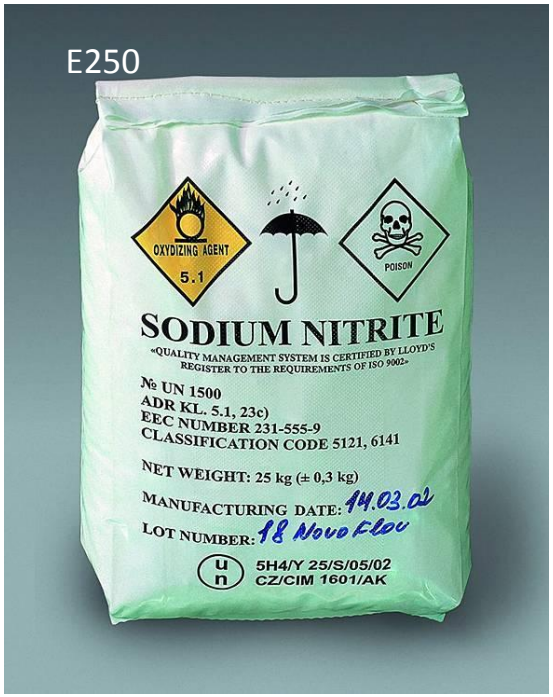
*Clostridium botulinum*



# Канцерогенез

Древнеримское название «колбаса» звучит как «botulus». От этого слова произошло слово "ботулизм". Процесс приготовления колбасы создает идеальные условия для развития вредной бактерии и выделения ею токсина - тепло, влажно и нет кислорода.

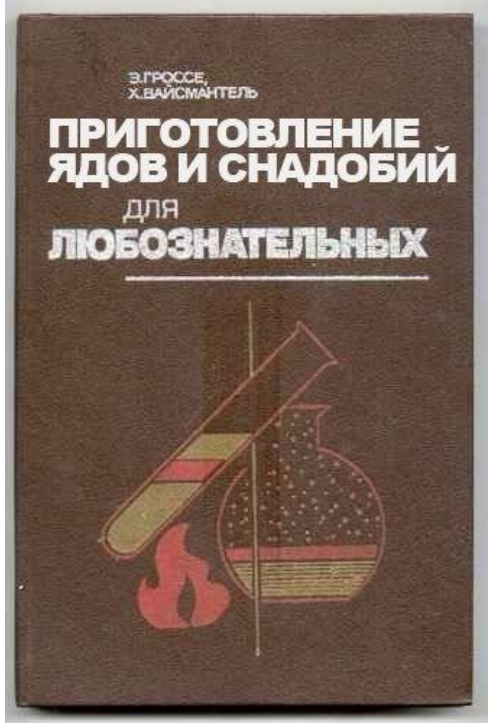
Нитрит натрия (E250), который сейчас есть почти во всех колбасах, надежно предотвращает развитие этой бактерии, а также многих других патогенов.



# Канцерогенез

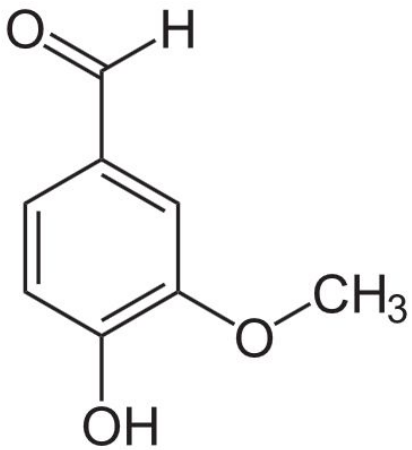
За прошедшие более полвека овощи, рыба и «экологически чистые», без пищевых добавок, домашние заготовки (главным образом грибы) стали причиной гораздо большего количества случаев ботулизма, чем говядина, свинина и курица и различные промышленные мясные продукты.

Добавление аскорбиновой или изоаскорбиновой кислоты практически полностью предотвращает образование нитрозаминов в мясе. Сегодня вся колбаса делается с добавлением аскорбиновой (E300) или изоаскорбиновой кислоты (эриторбат натрия E316, он же изоаскорбат натрия).

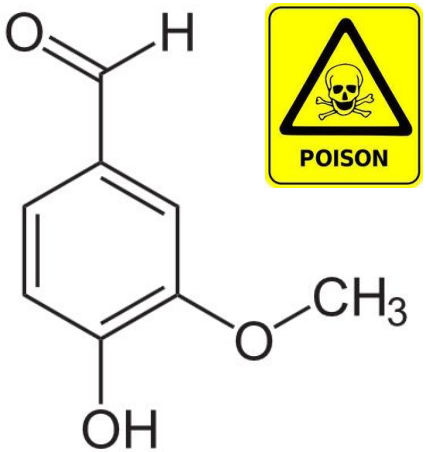


# Что опаснее?

Натуральный или синтезированный ванилин?




Натуральный ванилин



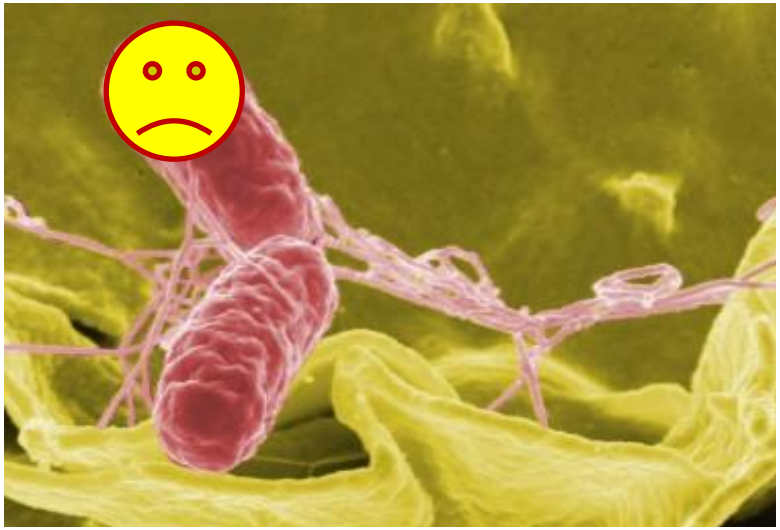

Синтетический ванилин

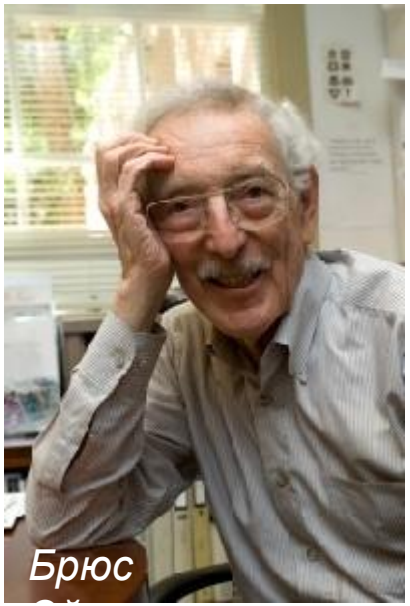
# Тест Эймса

**Тест Эймса** – микробный тест, используемый для выявления генотоксического действия веществ. Положительный результат в тесте показывает, что химическое вещество может обладать канцерогенными свойствами.

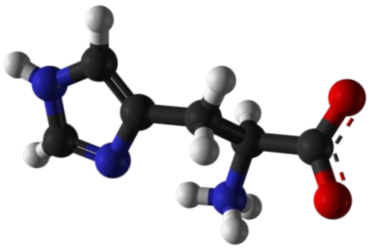
Принцип метода основан на выращивании мутантных ауксотрофных бактериальных клеток в присутствии исследуемого вещества.

Ауксотрофными называют мутантные клетки, неспособные расти на минимальной питательной среде без добавок метаболита, биосинтез которого нарушен в результате мутации.





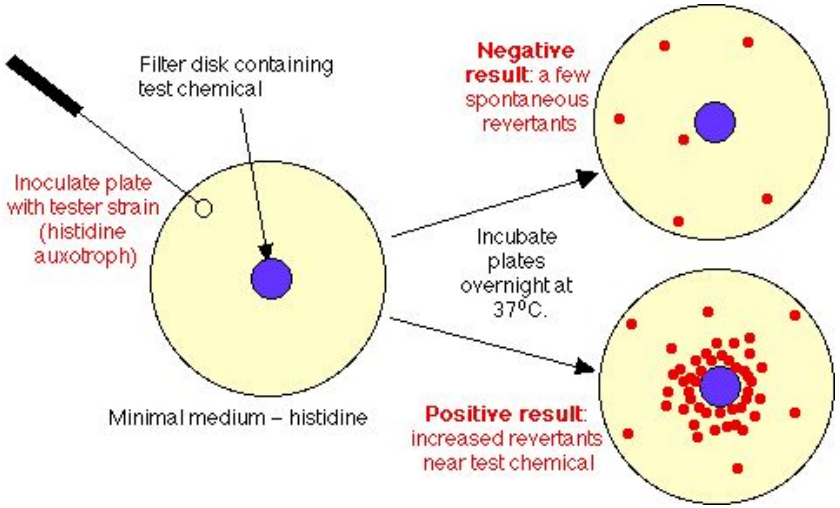
# Тест Эймса

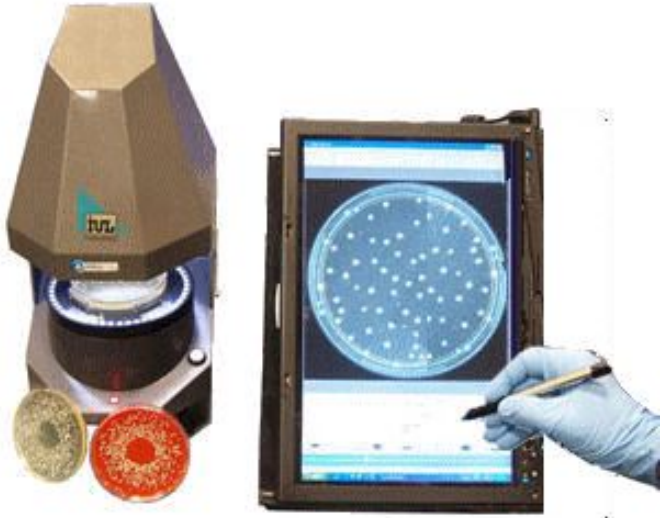


В классическом тесте Эймса чаще всего используют штаммы *Salmonella*, ауксотрофные по аминокислотам ($his^-$ – гистидин) ауксотрофность которых возникает в результате мутации.

Суспензию бактерий инкубируют в присутствии исследуемого вещества и высевают на твердую питательную среду, содержащую минимальное количество вещества, по которому бактерии ауксотрофны.

Вещества должно быть достаточно для того, чтобы клетки смогли совершить несколько делений, не образовав видимых колоний. Образующиеся мутации фиксируются в геноме бактерий. Когда возникают реверсии (обратные мутации) в гене, определяющем ауксотрофность, бактерии начинают расти без добавок, образуя видимые колонии.

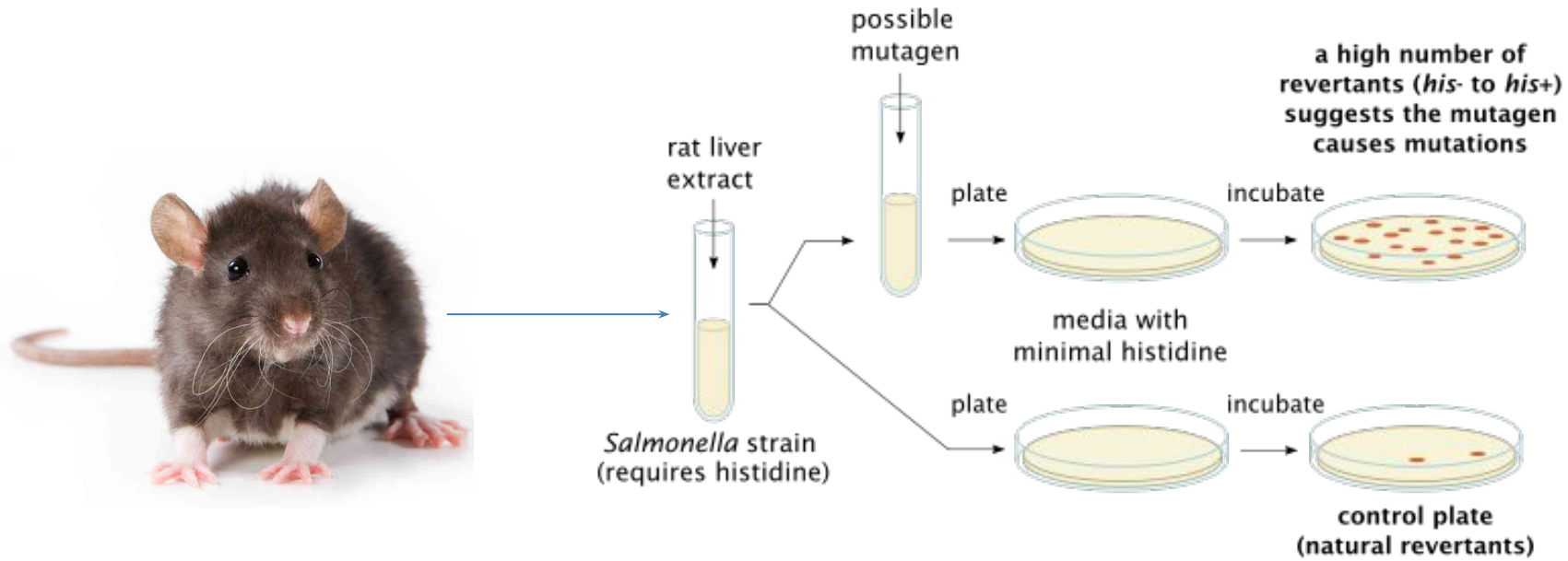


# Тест Эймса – модификации

Имеется большое количество модификаций теста Эймса. Наиболее важной является **<u>использование микросомных фракций печени грызунов</u>** для активации **<u>промутагенов</u>**.

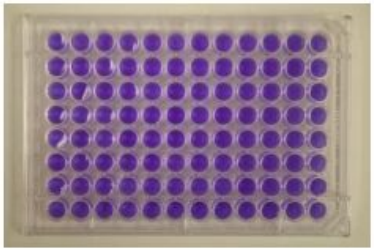
Микросомные фракции печени содержат все основные ферменты метаболической активации ксенобиотиков, поэтому, если испытуемое вещество обладает промутагенной активностью, оно активируется ферментами микросом *in vitro*, и такой результат легко выявляется в тесте Эймса.



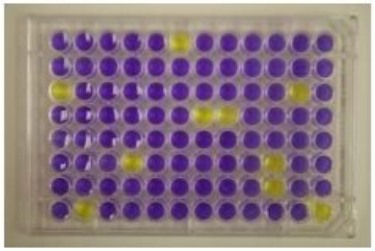
# Тест Эймса – модификации

В стандартном тесте Эймса используются чашки Петри с плотной питательной средой, одной из модификаций теста является **<u>флуктуационный тест</u>**.

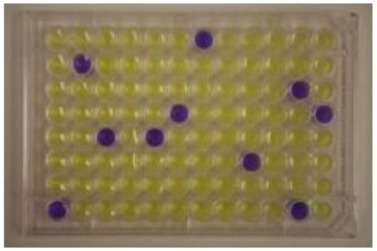
В нем используется жидкая культура, опыт ставится в многолуночной (96, 384) микропланшете, индикатором является цветовой переход от **пурпурного** к **желтому**.



Sterility Check

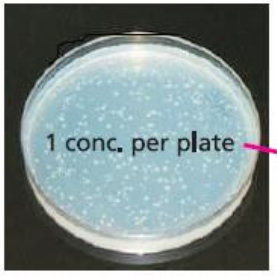


Background



Strong Mutagen

Positive Control




3 hours

8 measuring points per plate

30 minutes

Classical Ames

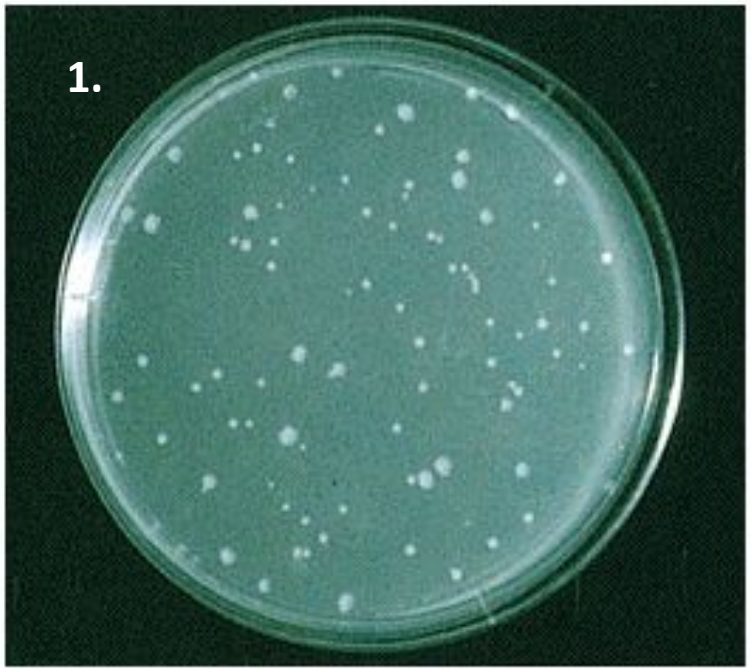
NEW Ames MPF™

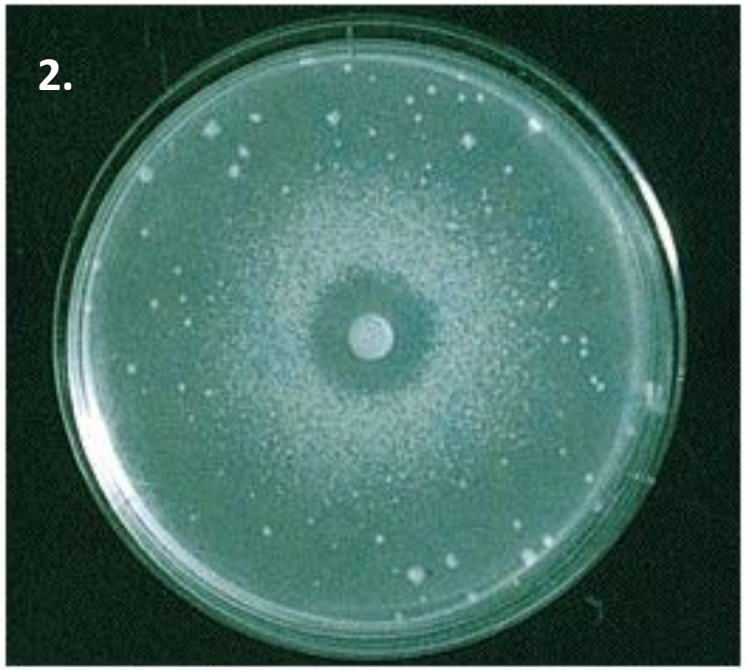
# Тест Эймса – альтернативы

В стандартном тесте Эймса используются ауксотрофные бактерии *Salmonella typhimurium*, альтернативой является **<u>бактериальный биолюминесцентный тест на генотоксичность</u>**.

**Mutatox™** – тест на мутантных бактериях *Vibrio fischeri*, потерявших в результате генноинженерных манипуляций способность к биолюминесценции. При наличии генотоксичность эта способность восстанавливается в результате обратной мутации.

# Тест Эймса




**Тест-организм:**
Генетически модифицированные и обычные бактерии (*Salmonella typhimurium, Vibrio fischeri*).
**Регистрируемая тест-функция:**
Развитие колоний; изменения цвета; свечение.
**Критерий токсичности (генотоксичности):**
Восстановление «отключенных» способностей (реверсивная мутация) по сравнению с контролем.