

---

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ СИСТЕМ  
УПРАВЛЕНИЯ И РАДИОЭЛЕКТРОНИКИ  
(ТУСУР)**

Кафедра радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга  
(РЭТЭМ)

**ТОКСИКОЛОГИЯ**

Методические указания к практическим и семинарским занятиям  
по дисциплине  
«Токсикология»

для подготовки бакалавров по направлениям  
**05.03.06 - «Экология и природопользование»**  
**20.03.01 – «Техносферная безопасность»**

Разработчик:

доцент кафедры РЭТЭМ, канд. биол. наук

Е.Г.Незнамова

**Томск 2018**

## **СОДЕРЖАНИЕ:**

<b>1.Практическая работа 1. Концепция поддержания гомеостаза живыми системами</b>	<b>3</b>
<b>2.Практическая работа 2. Факторы формирования ксенобиотического профиля территорий</b>	<b>5</b>
<b>3.Практическая работа 3. Нормирование в токсикологии (основы токсикометрии)</b>	<b>10</b>
<b>4.Практическая работа 4. Оценка токсического воздействия вещества на жизнедеятельность организмов</b>	<b>14</b>
<b>5.Практическая работа 5. Химические связи, образующиеся между токсикантами и молекулами-мишенями организма</b>	<b>17</b>
<b>6.Список использованных источников</b>	<b>24</b>

## **1. Практическая работа 1. Концепция поддержания гомеостаза живыми системами**

**Задание:** 1. *Ознакомьтесь с текстом. Определите понятие «Гомеостаз». Рассмотрите его особенности, приведите примеры поддержания гомеостаза. Только ли на организменном уровне действует концепция гомеостаза, или это принцип функционирования живых систем более и менее высокого ранга? Ответьте на вопросы, сделайте краткий конспект.*

2. *Вспомните понятие «толерантность». К каким процессам и законам его применяют в современном обществе.*

**Гомеостаз** — любой саморегулирующийся процесс, с помощью которого биологические системы устремляются к поддержанию внутренней стабильности, приспосабливаясь к оптимальным для выживания условиям.

Достигнутая стабильность фактически является динамическим равновесием, в котором происходят непрерывные изменения, но преобладают относительно однородные условия.

Любая система в динамическом равновесии желает достичь устойчивого состояния, баланса, который противостоит внешним изменениям. Когда такая система нарушена, встроенные регулирующие устройства реагируют на отклонения, чтобы установить новый баланс. Такой процесс является одним из элементов управления с обратной связью.

Примерами гомеостатической регуляции являются все процессы интеграции и координации функций, опосредованные электрическими цепями и нервными или гормональными системами.

Как отмечалось ранее, термин гомеостаз относится к поддержанию внутренней среды тела в узких и жестко контролируемых пределах. Основными функциями, важными для поддержания гомеостаза, являются баланс жидкости и электролита, регулирование кислотной среды, терморегуляция и метаболический контроль.

Контроль температура тела у людей считается отличным примером гомеостаза в биологической системе. Нормальная температура тела человека составляет около 37° С, но различные факторы могут влиять на этот показатель, включая гормоны, скорость метаболизма и болезни, приводящие к чрезмерно высоким или низким температурам. Регулирование температуры тела контролируется областью мозга, называемой гипоталамус. Обратная связь о температуре тела переносится через кровоток в мозг и приводит к компенсационным корректировкам в скорости дыхания, уровне сахара в крови и скорости метаболизма. Потеря тепла у людей обеспечивается уменьшением активности, потоотделением и механизмами теплообмена, которые позволяют большему количеству крови циркулировать вблизи поверхности кожи. Снижение потерь тепла осуществляется за счет изоляции, уменьшения циркуляции на коже и культурных изменений, таких как использование одежды, жилья и сторонних источников тепла. Диапазон между высокими и низкими уровнями температуры тела составляет гомеостатическое плато — «нормальный» диапазон, который поддерживает жизнь. По мере приближения к любой из двух крайностей, корректирующее действие (через отрицательную обратную связь) возвращает систему в нормальный диапазон.

Концепция гомеостаза также применяется к экологическим условиям. Впервые предложенная американским экологом Робертом Макартуром в 1955 году идея, что гомеостаз в экосистемах является продуктом сочетания биоразнообразия и большого количества экологических взаимодействий, происходящих между видами. Такое предположение считалось концепцией, которая могла бы помочь объяснить устойчивость экологической системы, то есть ее сохранение как определенного типа экосистемы с течением времени. С тех пор концепция несколько изменилась, и включила неживую составляющую экосистемы. Этот термин использовался многими экологами для описания взаимности, которая происходит между живыми и неживыми составляющими экосистемы для поддержания статус-кво.

**Клеточный гомеостаз** Клетки зависят от среды тела, чтобы сохранять жизнеспособность и правильно функционировать. Гомеостаз поддерживает среду тела под контролем и сохраняет благоприятные условия для клеточных процессов. Без правильных условий определенные процессы (к примеру, осмос) и белки (к примеру, ферменты) не будут функционировать должным образом. Почему гомеостаз важен для клеток? Живые клетки зависят от движения химических веществ вокруг них. Химические вещества, такие как кислород, углекислый газ и растворенная пища, необходимо транспортировать в клетки и из них. Это осуществляется процессами диффузии и осмоса, зависящих от баланса воды и соли в теле, которые поддерживаются гомеостазом. Клетки зависят от ферментов, чтобы ускорить многие химические реакции, поддерживающие жизнедеятельность и функциональность клеток. Эти ферменты работают лучше всего при определенных температурах, и поэтому снова гомеостаз жизненно важен для клеток, поскольку он поддерживает постоянную температуру тела [1].

## **2. Практическая работа 2. Факторы формирования ксенобиотического профиля территорий**

**Задание:** *Ознакомьтесь с текстами.1. Выполните конспект, ответив на вопросы: что такое биогеохимические провинции, каких веществ может не хватать людям, проживающим в различных областях. Какие адаптивные особенности есть у организмов. Проживающих на территориях с недостаточным количеством тех или иных элементов.*

**2.** *Выполните конспект, ответив на вопросы: что такое ксенобиотический профиль среды и каковы условия его формирования. Какую роль в этом процессе выполняют биотические, абиотические и антропогенные факторы среды.*

В.И.Вернадский, а позднее А.П.Виноградов разработали теорию

биогеохимических провинций, под которыми понимают территории, характеризующиеся повышенным или пониженным содержанием одного или нескольких химических элементов в почве или воде, а также в организмах животных и растений, обитающих на этой территории. На таких территориях могут наблюдаться определенные болезни, непосредственно связанные с недостатком или избытком этих элементов. Эти болезни получили название эндемических. Существуют территории, избыточно насыщенные токсическими элементами (ртутью, кадмием, таллием, ураном), и дефицитные регионы по содержанию йода, фтора, селена и других химических элементов. Почти 2/3 территории Российской Федерации характеризуются недостатком йода, около 40% - селена. Территория земного шара по геохимическим особенностям весьма различна. Таежно-лесная нечерноземная зона характеризуется недостатком кальция, фосфора, калия, кобальта, меди, йода, бора, цинка, достаточным количеством магния и относительным избытком стронция, особенно по речным поймам. В лесостепной и степной черноземной зоне наблюдается достаточное количество кальция, кобальта, меди, марганца. Сухостепная, полупустынная и пустынная зоны отличаются повышенным содержанием сульфатов, бора, цинка. В некоторых пустынях наблюдается избыток нитратов и нитритов. В горных зонах биогеохимический характер территорий, лежащих на разных высотах, различается. Отмечается недостаток йода, иногда кобальта, меди, а в некоторых случаях - избыток молибдена, кобальта, меди, свинца, цинка. В процессе эволюционного развития организм выработал способность к избирательному поглощению определенных химических элементов и их избирательной концентрации в определенных тканях. Такие способности реализуются в процессе обмена веществ с окружающей средой. Обмен осуществляется через пищевые цепи. В эти цепи включаются микроэлементы горных пород, почвы, воздуха и воды, поглощаемые растениями, входящие в состав организмов животных, которые с пищей и питьевой водой поступают в организм человека. Существенное значение для жизни организма имеют пороговые концентрации химических

элементов, т. е. те концентрации, за пределами которых происходит срыв регулирующих функций организма, и в результате этого возникают эндемические болезни. Различают начальные пороговые концентрации, от которых начинается недостаток элементов для организма, и верхние - от которых начинается избыток. Следовательно, и недостаток, и избыток могут вызвать заболевание организма. Кроме естественных биогеохимических районов и провинций, выделяют искусственные. Образование их обусловлено поступлением в окружающую среду неочищенных или плохо очищенных сточных вод, твердых отходов, содержащих химические вещества различных классов опасности, пестицидов, минеральных удобрений. В искусственных биогеохимических провинциях отмечается повышение уровня заболеваемости населения, связанное как с отдаленными последствиями их воздействий, так и с непосредственным их воздействием на организм. Отдаленные последствия проявляются в виде врожденных уродств, аномалий развития, нарушений физического и психического развития детей. Непосредственное воздействие встречается в виде случаев острых и хронических отравлений при проведении сельскохозяйственных работ.

### **Определение ксенобиотического профиля и его составляющих**

Из всего многообразия химических веществ для живых организмов значимы лишь те вещества, молекулы которых обладают свойством биодоступности. **Биодоступность** - способность вещества (молекулы) взаимодействовать с живыми организмами немеханическим путем. Как правило, это соединения, находящиеся в газообразном или жидком состоянии, в форме водных растворов, адсорбированные на частицах почвы и различных поверхностях, твердые вещества, но в виде мелко дисперсной пыли (размер частиц менее 50 мкм). Биодоступность ни в коей мере не должна ассоциироваться с токсичностью. Большая часть биодоступных соединений необходима живым организмам для участия в процессах их метаболизма, и потребляется организмами в качестве ресурсов среды обитания. Другая часть, поступая в организм животных и растений, не используются ими как источник

энергии, но, действуя в достаточных дозах и концентрациях, способна изменить течение нормальных физиологических процессов. Такие соединения называются чужеродными или ксенобиотиками (от греч. «xenos» - чужой «bios» - жизнь).

*Совокупность чужеродных веществ, содержащихся в окружающей среде (воде, почве, воздухе и живых организмах) в форме (агрегатном состоянии), позволяющей им вступать в химические и физико-химические взаимодействия с биологическими объектами экосистемы составляют ксенобиотический профиль биогеоценоза.*

В современных условиях ксенобиотический профиль наряду с температурой, освещенностью, влажностью, является одним из важнейших экологических факторов среды. Он, как и любой другой фактор, может быть описан качественными и количественными характеристиками. Особенностью ксенобиотического профиля является то, что при его оценке необходимо учитывать химсостав не только окружающей абиотической среды, но и чужеродные вещества, содержащиеся в органах и тканях живых существ, поскольку все они рано или поздно потребляются другими организмами (т.е. обладают биодоступностью). Напротив, химические вещества, фиксированные в твердых и нерастворимых в воде объектах (скальные породы, твердые промышленные изделия, стекло, пластмасса и др.), не обладают биодоступностью. И все же их необходимо рассматривать в качестве потенциальных источников формирования ксенобиотического профиля.

Ксенобиотические профили среды, сформировавшиеся в ходе эволюции, можно назвать естественными ксенобиотическими профилями. Они различны в разных регионах Земли и биоценозы, также эволюционно сложившиеся в этих регионах, в той или иной степени адаптированы к соответствующим естественным ксенобиотическим профилям.

Природные катастрофы, а в последние годы и хозяйственная деятельность человека, изменили естественный ксенобиотический профиль многих регионов. Из геологических глубин изымаются и перерабатываются тонны



веществ, не включавшихся ранее в геологические круговороты. Химические вещества накапливаются в среде в несвойственных ей количествах и изменяют естественный ксенобиотический профиль. Эти вещества называются экополлютантами (загрязнителями).

Экополлютант, накопившейся в ксенобиотическом профиле в количестве, достаточном для инициации токсического процесса в биоценозе (на любом уровне организации живой материи), называется экотоксикантом.

Необходимо учитывать, что в реальных условиях на биоценоз действует весь ксенобиотический профиль среды, влияя на биологическую активность отдельного поллютанта. Поэтому в разных регионах (разные ксенобиотические профили, различные биоценозы) количественные параметры трансформации поллютанта в экотоксикант различны.

### **Формирование ксенобиотического профиля**

Формирование ксенобиотического профиля среды определяется, наряду со сложившимися в эволюционном прошлом геохимическими особенностями местности, качественным составом химических элементов и веществ, поступающих в среду в настоящем, а также их количеством. Кроме того, имеет место зависимость формирования от процессов персистирования и трансформации, связанных не только с характеристиками экополлютантов, но и с особенностями конкретного биогеоценоза. Оказывают влияние также физические процессы, способствующие выносу экополлютантов за пределы экосистемы. Источники поступления экополлютантов в среду подразделяются на естественные (природные) и антропогенные.

**К числу природных источников** биодоступных ксенобиотиков, по данным ВОЗ (1992), относятся: переносимые ветром частицы пыли, аэрозоль морской соли, продукты вулканической деятельности, химические соединения, образующиеся при лесных пожарах, биогенные частицы, биогенные летучие вещества. Минеральная пыль, в зависимости от происхождения, имеет различный химический состав. Пыль, поднимаемая ветрами, в значительной мере состоит из частиц окиси кремния, в ее состав

входят и другие вещества — продукты выветривания горных пород, такие как окислы алюминия и железа, соли кальция. Пыль образованная мельчайшими частицами почвы, кроме минеральных, содержит некоторое количество органических веществ. С дымом лесных пожаров в воздух попадают частицы сажи, то есть углерода, и продукты неполного сгорания древесины — различные органические вещества, в числе которых много фенольных соединений, обладающих мутагенными и канцерогенными свойствами. Вулканическая пыль и пепел содержат некоторое количество растворимых солей калия, кальция, магния. С вулканическими газами в атмосферу попадают окислы серы, азота, углерода, а также хлор.

В период созревания спорангиев мхов и папоротников, цветения высших растений, особенно ветроопыляемых, в приземных слоях воздуха может содержаться значительное количество спор и пыльцы растений. Многие из них обладают аллергенными свойствами и способны вызывать у людей различные аллергические заболевания, которые в этом случае называются поллинозами.

Другим источником ксенобиотиков в среде, значение которого неуклонно возрастает, является деятельность человека [3].

### **3. Практическая работа 3. Нормирование в токсикологии (основы токсикометрии)**

#### **1. Основные показатели токсичности веществ**

Основные параметры, используемые в токсикологических исследованиях, подразделяются на общие и клинические.

*Клинические параметры* используются преимущественно в медицинской практике и интересуют, прежде всего, медиков. Поэтому мы ограничиваемся лишь их перечислением:

- *условная смертельная доза* (минимальная доза токсиканта, вызывающая смерть человека при однократном воздействии (мг/кг));
- *пороговая концентрация ядов в крови* (концентрация яда в крови, при

которой обнаруживаются первые симптомы отравления (мг/мл));

- *критическая концентрация* (концентрация яда в крови, соответствующая развернутой клинической картине отравлений (мг/мл));

- *смертельная концентрация* (концентрация яда в крови, при которой обычно наблюдается смертельный исход (мг/мл)).

В основе общих параметров токсикометрии лежит установление предельно-допустимых концентраций (ПДК) вредных веществ в различных средах.

**Предельно-допустимая концентрация** химического соединения во внешней среде – *такая концентрация, при взаимодействии которой на организм человека периодически или в течение всей жизни - прямо или опосредованно через экологические системы, а также через возможный экономический ущерб – не возникает соматических (телесных) или психических заболеваний (в том числе скрытых и временно компенсированных) или изменений состояния здоровья, выходящих за пределы приспособительных физиологических реакций, обнаруживаемых современными методами исследования сразу или в отдельные сроки жизни настоящего и последующих поколений.*

Основанием для установления ПДК является концепция пороговости вредного воздействия веществ.

**Порог вредного действия** (однократного и хронического) – *это минимальная концентрация (доза) вещества в объекте окружающей среды, при воздействии которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества и стандартной статистической группе биологических объектов) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология.*

Порог однократного действия обозначается символом  $L_{i\max}$ , встречается и другое обозначение –  $U_{niac}$ ; порог хронического действия - символом  $L_{i\text{mch}}$ .

**Среднесмертельная (смертельная доза)** - *вызывает гибель 50% (100%)*

подопытных животных при определенном способе введения внутрь (перорально, на кожу и т.д. кроме ингаляционного) в течении двух недель последующего наблюдения. Обозначается **DL<sub>50</sub>** (**DL<sub>100</sub>**), размерность – мг/кг., в частях на миллион (в англоязычной литературе: ppm – parts permillion).

При этом под **дозой** имеется в виду количество вещества, воздействующее на организм. Доза за единицу времени называется **уровнем дозы**.

Дозы выражаются в единицах массы или объема вредного вещества на единицу массы животных (мг/кг, мм/кг).

**Экспозиция** («expositio» лат. – выставление напоказ). Воздействие на объект какого-либо фактора в течении какого-либо времени. Иногда употреблением этого термина заменяют термин «уровень дозы».

**CL<sub>50</sub>** - концентрация, вызывающая гибель 50% (100%) подопытных животных при ингаляционном воздействии. Обозначается **CL<sub>50</sub>** (**CL<sub>100</sub>**), размерность – мг/м<sup>3</sup>., мг/л., в частях на миллион (в англоязычной литературе: ppm – parts permillion)

Под **токсичностью**, как мерой несовместимости химического вещества с жизнью биологического объекта, понимают величину обратную абсолютному значению средней смертельной дозы ( $1 / DL_{50}$ ) или концентрации ( $1 / CL_{50}$ ).

Величины средних смертельных доз или концентраций выбраны потому, что эти величины, соответствующие гибели 50% подопытных объектов, наиболее статистически достоверны.

Обмениваясь веществом и энергией с окружающей средой, организм (и любой биологический объект) представляет собой открытую систему, в которую поступают вещества и из которой вещества выводятся. Поэтому уместно говорить о величине допустимого поступления (скорости поступления) какого-либо вещества, имея в виду, что эта величина не выводит систему за пределы гомеостаза. Величину допустимого поступления определяют за сутки и за неделю.

**Допустимое суточное поступление** (acceptable daily intake – ADI) –

*приемлемая скорость поступления вещества в организм за сутки, часто в условиях продолжающегося воздействия. При введении этого показателя в качестве гигиенического норматива или осуществлении мониторинга с учетом допустимой скорости поступления в качестве эталонного уровня соответствующий период усреднения данных составляет около суток.*

**Допустимое поступление за неделю** (acceptable weekly intake – AWI) – *скорость поступления вещества в организм, оцененная за период, равный одной неделе, часто в условиях продолжающегося воздействия. При использовании этого показателя в качестве гигиенического норматива или осуществлении мониторинга с использованием его в качестве эталонного уровня, период усреднения данных составляет одну неделю (7 суток).*

**Допустимые остаточные количества – ДОК или ПДК<sub>пр</sub>** (в англоязычной литературе – maximum permissible levels – MPL, т.е. максимально допустимый уровень – МДУ) – *это такие количества веществ в продуктах питания, которые в течение неограниченно продолжительного времени не могут вызвать заболеваний или отклонений в состоянии здоровья контингентов населения, потребляющих эти продукты, или отрицательно влиять на последующие поколения.*

**Показатель – КВИО** (коэффициент возможности ингаляционного отравления) представляет собой *отношение концентрации насыщенных паров вещества в воздухе при 20° С к средней смертельной концентрации вещества для мышей (при 2-х часовой экспозиции и 2-х недельном сроке наблюдения).* Чем ниже смертельная концентрация, тем большее значение имеет КВИО. Этот коэффициент должен приниматься во внимание при установлении величины ПДК.

При установлении регламента ПДК необходимо уменьшение заведомо токсичной концентрации. Это уменьшение характеризуется *коэффициентом запаса*, который устанавливается для каждого вещества с учетом количественных и качественных особенностей его действия.

И. В. Саноцким были сформулированы положения к обоснованию

величины коэффициента запаса. Он должен увеличиваться:

- с увеличением абсолютной токсичности;
- с увеличением КВИО;
- с увеличением зоны острого действия;
- с увеличением кумулятивных свойств (см. раздел 3);
- при значительных различиях в видовой чувствительности подопытных животных;
- при выраженном кожно-резорбтивном действии (для веществ, находящихся в газовой фазе).

#### **4. Практическая работа 4. Оценка токсического воздействия вещества на жизнедеятельность организмов**

**Задание:** *Ознакомьтесь с теоретической частью, разберите алгоритм оценки токсичности вещества по Спирмену — Керберу. Рассчитайте генеральную среднюю дозу эффекта  $LD_{50}$  аналогичным способом с данными, приведенными в таблице 2.*

**Теоретическая часть.** При испытании инсектицидов, лекарственных, радиоактивных и других биологически активных веществ обнаруживается, что особи однородной группы реагируют на одну и ту же дозу по-разному, (т.е. имеет место индивидуальная изменчивость) и что разные дозы могут вызывать одинаковый эффект у целой группы индивидов. Отсюда следует, что о силе действия на организм биологически активных веществ можно судить лишь по среднему результату.

Дозы сильнодействующих веществ испытывают на однородных группах (мыши, крысы и другие объекты) по 6 - 10 особей в группе. На каждой группе изучают одну дозу. Обычно применяют 5 - 9 доз в возрастающем по силе действия порядке. Опыт проводят одновременно на всех группах

особей. При этом учитывают число особей, у которых обнаружился эффект, и число тех, у которых видимого эффекта от действия доз не обнаружено. О среднем результате судят по обнаружению эффекта действия доз у 50% подопытных индивидов.

Определить дозу, вызвавшую видимый эффект или летальный исход у 50% подопытных индивидов, можно разными способами - графически и аналитически. Установлено, что индивидуальные реакции подопытных животных на воздействие биологически активных веществ распределяются, как правило, нормально. Зависимость между дозой и эффектом действия графически выражается в виде S-образной кривой, или *кумуляты*. Кумулята, называемая *кривой эффекта доз*, может быть получена, если по оси абсцисс откладывают дозы вещества, а по оси ординат - эффект воздействия этих доз на подопытных животных. Центральная точка кумуляты совпадает с центром распределения. Опуская из этой точки перпендикуляры на оси координат, можно определить среднюю дозу эффекта. Проще, однако, среднюю дозу эффекта определить аналитическими способами, один из которых рассматривается далее.

**Способ Спирмена — Кербера.** Достоинство этого способа заключается в том, что он позволяет не только рассчитать среднюю дозу эффекта  $M$ , но и построить доверительный интервал для генеральной средней  $\mu$ . Среднюю дозу эффекта определяют по формуле:

$$M = m - d (P_1 - 0.5), \quad (1)$$

где  $m$  — минимальная доза, вызывающая эффект у 100% подопытных индивидов;  $d$  — разница между дозами;  $P_1$  — суммарная доля реагирующих на дозы индивидов.

Среднее квадратическое отклонение вычисляют по следующей формуле:

$$S_m = d \sqrt{2P_2 - P_1^2 - P_1 - 1/12} \quad \dots \quad (2)$$

Здесь  $P_2$  — сумма ряда накопленных долей реагирующих на дозы

ИНДИВИДОВ.

*Пример. На группе, состоящей из десяти лабораторных мышей, испытывали действие ядовитого вещества. Дозы яда рассчитывали в миллиграммах на 1 кг массы тела подопытных животных. Эффект действия яда учитывали по летальным исходам. Результаты опыта приведены в таблице.*

*В данном случае  $n=10$ ,  $d=10$ ,  $m=180$  мг/кг,  $P_1=4,0$  и  $P_2=11,8$ . Подставляем известные величины в формулы (1) и (2):  $M=LD_{50}=180-10(4,0-0,5)=180-35=145$  мг/кг, получаем  $S_m = 18,75$ .*

*Найденные величины  $M=145$  и  $S_m = 18,75$  позволяют построить доверительный интервал для генерального параметра, т. е. истинной средней дозы эффекта:  $M \pm \Delta_m$ , где  $\Delta_m = tS_{m1}$  — величина предельной ошибки средней  $m$ .*

*В данном случае  $S_{m1} = S_m/\sqrt{n} = 18,75/\sqrt{10} = 18,75/3,16 = 5,93$ . Отсюда для 5%-ного уровня значимости и соответственно  $t=1,96$  нижняя и верхняя границы доверительного интервала составляют:*

*$M \pm \Delta_m$ :  $145 - 1,96 \cdot 5,93 = 145 - 11,62 = 133,38 \sim 133$  мг/кг- нижняя;  
 $145 + 11,62 = 156,62 \sim 157$  мг/кг.- верхняя.*

*Это означает, что с вероятностью  $P = 0,95$  можно утверждать, что генеральная средняя доза эффекта  $LD_{50}$  находится в пределах от 133 до 157 мг/кг.*

Таблица 1. Результаты опытов, используемые при расчетах в примере

Доза, мг/кг	110	120	130	140	150	160	170	180	Суммарная доза
Число погибших животных	0	1	3	4	6	7	9	10	-
Доля погибших животных	0	0,1	0,3	0,4	0,6	0,7	0,9	1,0	4,0



Накопленная доля погибших животных	0	0,1	0,4	0,8	1,4	2,1	3,0	4,0	11,8
Таблица 2. Исходные данные для расчета									
Доза, мг/кг	100	110	120	130	140	150	160	170	Суммарная доза
Число погибших животных	0	2	3	5	7	8	9	10	-
Доля погибших животных									
Накопленная доля погибших животных									

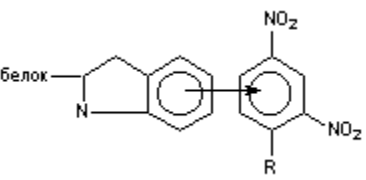
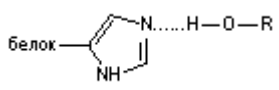
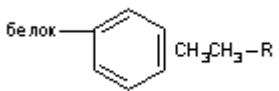
## 5. Практическая работа 5. Химические связи, образующиеся между токсикантами и молекулами-мишенями организма

**Задание:** 1. Ознакомиться с типами химической связи. 2. Сделать краткий конспект, содержащий характеристики типов связей и рисунки. 3. Сравнить химические связи по прочности и сделать выводы о токсичности веществ, обладающих различными типами связей. 4. Определить, согласно степени прочности, характер процесса детоксикации организма.

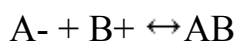
При взаимодействии токсиканта с биологическими структурами-мишенями могут образовываться различные типы химических связей (табл. 1).

Таблица 1. различные типы связей, формирующихся между токсикантами и молекулами-мишенями организма

Вид связи	Пример	Энергия связи (кДж/мол)

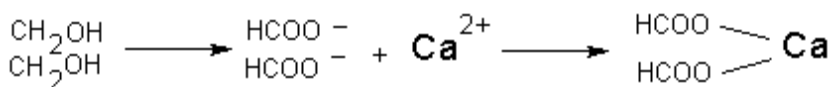
Ионная	белок—NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ..... <sup>-</sup> OOC—R	20
Ковалентная	белок—S—Hg—R белок—O—P(=O)(R) <sub>2</sub>	40 - 600
Донорно-акцепторная		4 – 20
Ион-дипольная	белок—NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> .....O <sup>-</sup> —H <sup>+</sup>	8 – 20
Диполь-дипольная	белок <sup>+</sup> .....O <sup>-</sup> —C(=O)—NH <sub>2</sub>	4 – 12
Водородная	белок— 	4 – 28
Ван-дер-Ваальса	белок— 	1 – 4
Гидрофобная	белок—CH <sub>2</sub> —CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> —R	1 – 6

**Ионная связь.** В водных растворах многие вещества диссоциируют с образованием ионов. Между положительно и отрицательно заряженными ионами токсиканта и эндогенными ионами-мишенями начинают действовать силы электростатического притяжения. Вследствие притяжения возникает химическая связь. Связь такого типа называется электровалентной или ионной. Образованные катионами и анионами вещества не несут электрического заряда.



Токсические последствия подобного взаимодействия в организме развиваются в случае образования не растворимого в воде комплекса иона-токсиканта с биологически значимым ионом-мишенью. Например, при интоксикации фторидами, ион фтора может вступать во взаимодействие с

ионом кальция. В итоге образуется нерастворимый фторид кальция. Развивающаяся гипокальциемия имеет определенное значение для развития и проявления интоксикации. Аналогичным образом действует щавелевая кислота, образующаяся в организме в процессе метаболизма этиленгликоля при интоксикации последним:



Поскольку степень диссоциации многих веществ в водном растворе существенно зависит от рН среды, количество образовавшихся за счет ионной связи комплексов токсикант-мишень также зависит от этого показателя.

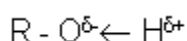
**Ковалентная связь.** Для образования ковалентной связи, взаимодействующие атомы должны иметь на внешней электронной орбите неспаренные электроны. Эти электроны занимают одну и ту же орбиталь, а образовавшаяся общая пара формирует силу притяжения между атомами. В результате образования такой общей пары электронов каждый из взаимодействующих атомов приобретает "завершенный набор" электронов и образовавшееся соединение становится стабильным. Энергия ковалентной связи велика и составляет 200 - 400 кДж/мол

Высокая стабильность связи этого типа означает практически необратимый характер присоединения токсиканта к структуре-мишени. Примерами веществ, образующих с биомолекулами подобную связь, являются ФОС (взаимодействуют с серином, входящим в структуру активного центра ацетилхолинэстеразы), иприты (взаимодействуют с пуриновыми основаниями нуклеиновых кислот), а также целый ряд других распространенных токсикантов (метилбромид, метилхлорид, этиленоксид и др.). Вследствие прочности образовавшейся связи, разрушение комплекса токсикант-биомишень возможно только с помощью специальных средств (например, реактиваторов ХЭ при интоксикации ФОС). Восполнение содержания поврежденной токсикантом биологической структуры возможно также за счет

синтеза её de novo. Так, восстановление активности АХЭ в тканях лабораторных животных отравленных зоманом проходит со скоростью синтеза энзима нервными клетками.

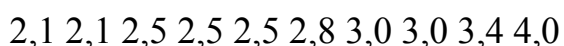
**Координационная связь** - это ковалентная связь, в которой обобществленную пару электронов предоставляет только один из участвующих в связи атомов. Один из атомов является донором, а другой акцептором электронной пары, поэтому эту связь называют также донорно-акцепторной. Акцепторами часто являются катионы металлов, или атомы переходных металлов (Zn, Cu, Fe), входящих в состав молекулы. Таким образом, в частности, оксид углерода взаимодействует с железом гемоглобина, с образованием карбоксигемоглобина.

**Водородная связь.** Ковалентная связь между атомом водорода и электроотрицательным атомом (кислород, азот, сера и т.д.) более или менее поляризована



Вследствие этого атом водорода приобретает незначительный положительный заряд. Если вблизи такого атома находится молекула или группа, содержащая анион или электроотрицательный атом, между ними образуется слабая связь, называемая водородной.

Водородная связь может образовываться как между молекулами, так и между атомами внутри молекул. Энергия связи не велика и в водном растворе составляет около 20 кдж/мол. Её прочность во многом зависит от строения взаимодействующих веществ, в частности, от степени электроотрицательности атомов, связанных с водородом. Электроотрицательность атомов возрастает в ряду:



Водородные связи имеют очень большое значение для поддержания пространственной структуры белков, нуклеиновых кислот и других высокомолекулярных соединений. Вещества, способные разрушать

водородную связь, могут нарушать пространственную структуру макромолекул (явление интерколации: встраивание молекул акридина, этидиумбромида между плоскостями, образуемыми витками спирали молекулы ДНК).

В состав молекул токсикантов также входят группы, способные участвовать в образовании водородных связей. Если эти группы (X-H) являются структурными элементами "активного" радикала токсиканта, то они участвуют в образовании сложной связи вещества с молекулой-мишенью. Поскольку водородные связи являются по сути электростатическими, их сила ослабевает в присутствии веществ, обладающих свойствами диэлектриков ("неэлектролитов").

**Связи Ван-дер-Ваальса.** Форма электронного облака молекул квазистабильна, то есть не изменяется до тех пор, пока на неё не действуют внешние силы. Под влиянием электромагнитных полей электронные облака молекул деформируются. При этом безразлично вызвано ли появление деформирующих сил воздействием внешних полей или поле сформировано близлежащими ионами, диполями, аполярными молекулами. Степень деформированности электронного облака зависит от энергетических характеристик воздействующих полей и поляризуемости самой молекулы. Способность электронного облака к деформации (поляризуемость) зависит от размеров молекулы. У больших молекул она больше, чем у малых, поскольку сместить электроны, находящиеся на значительном удалении от ядра атома, легче.

Деформирующее воздействие полей превращает неполярные молекулы в диполи, так как центры максимальной плотности положительного и отрицательного зарядов молекулы несколько разъединяются в пространстве. Сформированный диполь называют индуцированным или временным, поскольку он перестает существовать сразу после прекращения действия деформирующих сил. Две близлежащие неполярные молекулы могут взаимно индуцировать образование временных диполей и, таким образом

взаимодействовать друг с другом. Силы взаимодействия, формирующиеся между временными диполями, называются силами Лондона - Ван-дер-Ваальса. Энергия образующейся связи мала, однако она существенно возрастает при увеличении числа участков контакта между взаимодействующими молекулами. Со стороны токсиканта это могут быть ароматические, гетероциклические, алкильные радикалы; со стороны рецептора - неполярные участки молекул аминокислот (лейцин, валин, аланин, пролин и др.). Вклад каждой  $-CH_2-$  группы алкильной цепи во взаимодействие оценивается в 2 - 4 кДж/мол. При тесном контакте больших неполярных молекул энергия связи может достичь очень больших величин. Поэтому при образовании комплекса токсикант-биомишень силы Ван-дер-Ваальса могут обеспечивать очень прочную фиксацию ксенобиотика. Действующая сила, ответственная за формирование связи, обратно пропорциональна седьмой степени расстояния между взаимодействующими молекулами. Поэтому она не может обеспечить притяжение молекул токсиканта, свободно циркулирующих в биосредах, к рецептору. В этом процессе первостепенную роль играют силы электростатического взаимодействия. Однако после того как контакт между токсикантом и рецептором осуществился силы Ван-дер-Ваальса обеспечивают его ориентацию и плотную фиксацию.

**Гидрофобное взаимодействие.** Гидрофобные связи формируются в водной среде, когда молекулы взаимодействующих веществ контактируют друг с другом неполярными (гидрофобными) участками. В отличие от взаимодействия Ван-дер-Ваальса и донорно-акцепторного взаимодействия, которые также формируются при взаимодействии неполярных групп, образование гидрофобных связей обусловлено свойствами воды, без участия которой взаимодействие происходить не может. В соответствии с теорией, молекулы воды связаны друг с другом водородными связями, образуя трехмерную структуру (кластер), напоминающую структуру льда. На границе поверхности, разделяющей неполярную молекулу и молекулы воды, образование такой структуры затрудняется. При контакте двух неполярных

молекул, растворенных в воде, общая площадь поверхности, разделяющей воду и эти молекулы, уменьшается. Вследствие этого, мобилизуется часть молекул воды, организованных в кластер. В противоположность всем другим химическим связям и взаимодействиям гидрофобная связь, таким образом, обусловлена преобразованием растворителя (воды), а не растворенных взаимодействующих веществ. Движущей силой образования связи является рост энтропии целостной системы растворитель - растворенные молекулы. Структурная организация гидрофобных, взаимодействующих молекул возрастает (уменьшение энтропии), но при этом существенно дезорганизуется (энтропия возрастает) структура растворителя (воды).

Гидрофобные связи имеют большое значение при взаимодействии неполярных молекул ксенобиотиков с клеточными и внутриклеточными мембранами, для образования их комплексов с белками, при этом возможно нарушение конформации макромолекул.

*В процессе взаимодействия низкомолекулярного вещества с биомишенью практически всегда формируется несколько типов связей, поскольку молекула токсиканта, как правило, включает полярный (иногда даже ионизированный), и неполярный фрагменты.*

Ионные связи, за счет которых осуществляется притяжение молекулы к биомишени, мало специфичны (аналогично ион-дипольному и диполь-дипольному взаимодействию). Взаимодействие между неполярными группами также неспецифично. Однако, если в структуре мишени (например, рецепторе для эндогенных биорегуляторов) полярные и неполярные группы пространственно организованы, между этими участками и особыми участками молекулы токсиканта образуются специфичные связи, обусловленные пространственной организацией молекулы токсиканта. Такое взаимодействие можно сравнить с ориентацией намагниченных стрелок в магнитном поле. После ориентации молекулы с помощью ионного (диполь-дипольного) взаимодействия между ней и рецептором формируется тесный контакт, и образуются связи за счет водородных сил и сил Ван-дер-Ваальса.

Образующийся комплекс тем более прочен, чем более комплементарна молекула токсиканта рецептору.

## **6. Список использованных источников:**

- 1 Природа Мира|NatWorld.info <https://natworld.info/raznoe-o-prirode/harakteristika-funkcii-primery-i-mehanizmy-podderzhaniya-gomeostaza> ©  
Природа Мира|NatWorld.info
- 2 Кучер Т. В., Колпащикова И. Ф. Медицинская география <http://nrk.kipk.ru/body/pie/body/8/endem/biogeo.htm>
- 3.Незнамова Е.Г. Экологическая токсикология: Учебно-методическое пособие/ Е.Г. Незнамова. -Томск: Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, 2007.- 133с.
- 4.Незнамова Е.Г. Экология растений: Учебное пособие/ Е.Г. Незнамова.- Томск: Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, 2007.- 130с.
5. Садовникова Л.К., Орлов Д.С., Лозановская И.Н. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении изд.3-е., перераб.- М.: Высш.шк., 2006.- 334с : Библиотека ТУСУР,
6. Дмитренко, В.П. Техносферная токсикология. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2013. — 400 с. [Электронный ресурс].- Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/4867> (дата обращения: 11.06.2018)
7. Кукин, П. П. Оценка воздействия на окружающую среду. Экспертиза безопасности : учебник и практикум для бакалавриата и магистратуры / П. П. Кукин, Е. Ю. Колесников, Т. М. Колесникова. — М. : Издательство Юрайт, 2018. — 453 с. — (Серия : Бакалавр и магистр. Академический курс). — ISBN 978-5-534-02320-6. [Электронный ресурс].- Режим доступа: <https://biblio-online.ru/book/F82888EA-47E3-4D8F-87A0-3E3D42429185/ocenka-vozdeystviya-na-okruzhayuschuyu-sredu-ekspertiza-bezopasnosti> (дата обращения: 11.06.2018)



8. Подборка книг и учебников по токсикологии [Электронный ресурс].-  
Режим доступа: <http://www.booksmed.com/toksikologiya/> (дата обращения:  
11.06.2018)

9. Научные и научно-популярные статьи по токсикологии [Электронный  
ресурс].- Режим доступа: [http://chemistry-  
chemists.com/chemister/NoChemie/Toxicology/toxicology.htm](http://chemistry-chemists.com/chemister/NoChemie/Toxicology/toxicology.htm) (дата обращения:  
11.06.2018).