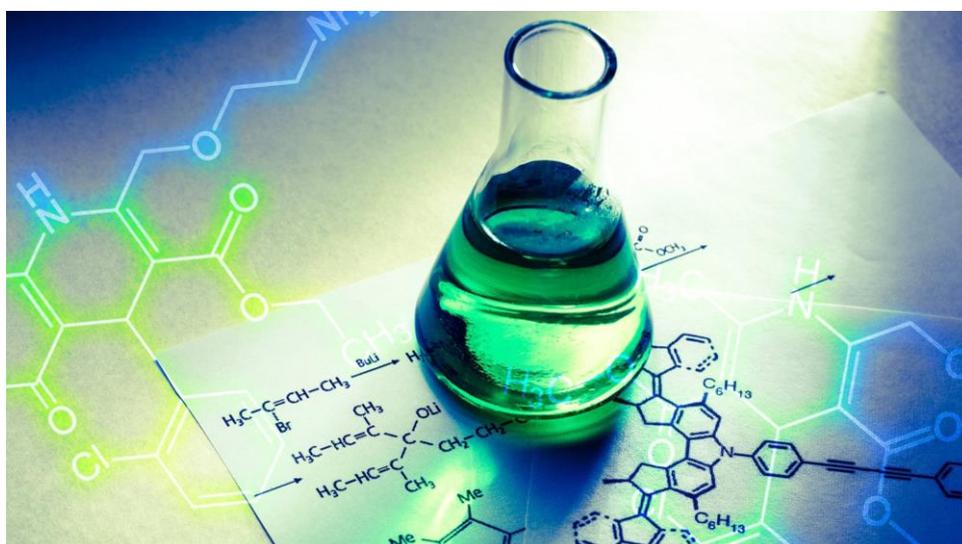


# ІІТМО

Е.В. Попова

## ПРАКТИКУМ ПО ОСНОВАМ ТОКСИКОЛОГИИ МАТЕРИАЛОВ



Санкт-Петербург  
2023

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

**Е.В. Попова**  
**ПРАКТИКУМ ПО ОСНОВАМ**  
**ТОКСИКОЛОГИИ МАТЕРИАЛОВ**

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ ИТМО  
студентам бакалавриата, обучающимся по направлению подготовки 12.03.04  
«Биотехнические системы и технологии»; а также преподавателям, ведущим  
теоретические и лабораторные занятия по курсу «Основы токсикологии  
материалов»

**ИТМО**

Санкт-Петербург  
2023

Попова Е.В., Практикум по основам токсикологии материалов – СПб:  
Университет ИТМО, 2023. – 56 с.

Рецензент(ы):

Рейнюк Владимир Леонидович, доктор медицинских наук, доцент, врио директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России);

Кашуро Вадим Анатольевич, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биологической химии, ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Данный практический курс рассчитан для обучения студентов бакалавров высших образовательных учреждений, обучающихся по специальностям «Биотехнология», «Технология лекарственных препаратов», «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции», «Биоинженерия», «Биоэкология».

Методичка состоит из 8 основных разделов. Каждый раздел включает в себя лабораторную работу, практическое задание, тест и задачу. Каждый раздел сопровождается кратким лекционным предисловием, позволяющим успешно выполнить предлагаемые в данной методичке задания.

The logo of ITMO University, consisting of the letters 'ITMO' in a bold, black, sans-serif font. The letter 'I' is slightly taller than the others.

**Университет ИТМО** – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Университет ИТМО, 2023  
© Попова Е.В., 2023

## Содержание

Тема 1. Основные понятия токсикологии	6
Тема 2. Синтетические токсиканты. Токсины растений, животных и грибов	11
Тема 3. Введение в токсикометрию	18
Тема 4. Введение в токсикокинетику	23
Тема 5. Механизмы цитотоксичности	29
Тема 6. Механизмы токсического действия вредных веществ	34
Тема 7. Антидоты и механизмы их действия	41
Тема 8. Проведение токсикологического эксперимента	47
Ответы на тестовые задания	52
Список литературы	53

## Предисловие

Учебное пособие адресовано студентам бакалавриата, обучающимся в ИТМО по направлению подготовки 12.03.04 «Биотехнические системы и технологии»; а также преподавателям, ведущим теоретические и лабораторные занятия по курсу «Основы токсикологии материалов». Данная дисциплина опирается на элементы компетенций, сформированные при изучении дисциплин «Биохимия», «Анатомия», «Медико-биологические основы безопасности жизнедеятельности», «Общая и неорганическая химия», «Органическая химия».

Пособие состоит из 8 основных разделов. Каждый раздел включает в себя лабораторную работу, практическое задание, тест и задачу. Каждый раздел сопровождается кратким лекционным предисловием, позволяющим успешно выполнить предлагаемые в данной методичке задания.

Учебный план дисциплины предусматривает чтение лекций и проведение практических и лабораторных занятий, а также самостоятельную работу студентов. Лекционный курс рассчитан на системное изучение теоретических основ общей токсикологии и включает в себя такие разделы, как «Основные понятия токсикологии», «Синтетические и природные токсиканты», «Токсикометрия», «Токсикокинетика», «Механизмы цитотоксичности», «Механизмы токсического действия вредных веществ», «Антидоты и механизмы их действия», «Проведение токсикологического эксперимента». Практические и лабораторные работы нацелены на закрепление полученных на лекционных занятиях знаний и на приобретение практических навыков расчетов токсикологических параметров, применения аналитических методов для определения токсиканта, приобретение практических навыков применения антидотов и работе с ними.

По окончании изучения лекционного курса студенты должны знать: основные понятия токсикологии; основные классификации отравлений; основные классификации токсикантов; основные пути поступления и выведения вредных веществ; механизмы биотрансформации токсикантов; основные принципы действия антидотов; механизмы токсического воздействия вредных веществ на организм.

По окончании изучения практического курса студенты смогут определять класс опасности токсикантов на основании экспериментальных параметров, будут знать основные пути поступления токсикантов в организм и пути их выведения, будут предполагать механизмы токсического действия вредных веществ на организм, овладеют навыками проведения химико-токсикологического анализа.

Компетенции, освоенные при изучении данной дисциплины, будут развиваться далее в дисциплине «Основы токсикологии наноматериалов».

## Тема 1. Основные понятия токсикологии

**Токсикология** – наука, изучающая закономерности развития и течения патологических процессов (отравлений), вызванных воздействием ядовитых веществ на организм человека и животных.

**Цель токсикологии** – изучение механизма действия химических веществ на организм человека и животных, разрабатывает методы диагностики, лечения и профилактики отравлений, закономерности развития и течения патологического процесса (отравления), законы взаимодействия живого организма и вещества.

Токсикология решает следующие **задачи**:

1. Установление количественных характеристик токсичности, причинно-следственных связей между действием химического вещества на организм и развитием форм токсического процесса. Раздел токсикологии, решающий данные задачи, называется **токсикометрией**.
2. Изучение проявлений интоксикаций и других форм токсического процесса, механизмов, лежащих в основе токсического действия, закономерностей формирования патологических состояний. Данные задачи решает **токсикодинамика**.
3. Выявлением путей проникновения токсикантов в организм, закономерностей их распределения, метаболизма и выведения занимается **токсикокинетика**.
4. Установление факторов, влияющих на токсичность вещества.

В настоящее время в токсикологии выделяют теоретическую, профилактическую и клиническую токсикологию.

Используемые в настоящее время токсиканты различаются по очень большому спектру физико-химических и терапевтических показателей. Поэтому было введено несколько видов классификаций. Известны две большие группы: **общие**, основанные на каком-либо общем принципе оценки, подходящем для всех химических веществ, и **специальные**, отражающие связь между отдельными физико-химическими или другими признаками веществ и проявлениями их токсичности (табл. 1).

Таблица 1. Классификация токсикантов

<b>Общие</b>	<b>Специальные</b>
По химическим свойствам (химическая); По цели применения (практическая); по степени токсичности (гигиеническая); По виду токсического действия (токсикологическая); По избирательной токсичности	По типу развивающейся гипоксии (патофизиологические); По механизму взаимодействия с ферментными системами (патохимические); По характеру биологического последствия отравлений (биологическая); По степени канцерогенной активности

Также токсиканты можно разделить на **экзогенные** и **эндогенные**. К экзогенным токсикантам относятся те, которые поступили в организм извне

(например, яды животного, растительного происхождения, промышленные яды, лекарства, боевые отравляющие вещества). К эндогенным токсинам относят естественные продукты метаболизма, проявляющие токсичность в очень высоких концентрациях.

Принадлежность химических веществ к соответствующему классу опасности (Таблица 2) определяется величинами семи показателей. Классификация не распространяется на пестициды. Определяющим является тот показатель, который свидетельствует о наибольшей степени опасности. К таким показателям относятся летальная токсодоза и эффективная токсодоза.

**Смертельная или летальная токсодоза LD** – количество токсиканта, вызывающее с определенной вероятностью при попадании в организм смертельный исход.

**Эффективная токсодоза ED** – количество токсиканта, вызывающее при попадании в организм определенный эффект с определенной вероятностью.

Таблица 2. Классификация производственных вредных веществ по степени опасности.

Показатель	Классы токсичности			
	I (чрезвычайно опасные)	II (высоко опасные)	III (умеренно опасные)	IV (мало опасные)
$LD_{50}$ (пероральная), мг/кг	Менее 15	15–150	151–5000	Более 5000
$LD_{50}$ (кожная), мг/кг	Менее 100	100–500	501–2500	Более 2500
$CL_{50}$ (в воздухе), мг/м <sup>3</sup>	Менее 500	500–5000	5001–50000	Более 50000
ПДК (в воздухе рабочей зоны), мг/м <sup>3</sup>	Менее 0,1	0,1–1,0	1,0–10,0	Более 10
КВНО	Более 300	30–300	3–30	Менее 3,0

Формирование и развитие реакций организма на действие токсиканта, приводящих к повреждению или гибели называется **токсическим процессом**. Внешние, регистрируемые признаки токсического процесса называются его проявлениями. Токсичность проявляется и может быть изучена только в процессе взаимодействия химического вещества и биологических систем (клетки, изолированного органа, организма, популяции).

Длительность воздействия токсиканта определяет степень тяжести **интоксикации** (острая, подострая и хроническая). **Острая** интоксикация развивается в результате однократного или повторного действия в течение ограниченного периода времени (как правило, до суток). Интоксикация **подострая** развивается в результате непрерывного или прерываемого во времени действия

токсиканта продолжительностью до 90 суток. **Хроническая** интоксикация развивается в результате продолжительного (иногда годы) действия токсиканта.

Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие «доза» (D). Известно, что с увеличением дозы увеличивается степень повреждения биологического объекта. В этом и заключается суть понятия «**доза-эффект**». Кроме того, известно, что различные живые системы, существенно отличаются друг от друга по биохимическим, физиологическим, морфологическим показателям (например, человек, рыба и мышь). Эти отличия в большинстве случаев обусловлены их генетическими особенностями. Это значит, что доза одного и того же токсиканта, которая может вызывать повреждение организмов различается. Таким образом, зависимость "доза-эффект" отражает свойства не только токсиканта, но и организма, на который он действует. Зависимость эффекта (R) воздействия веществ на биологический объект от дозы может быть изображена графически в виде **кривой «доза – эффект»**.

### Задание

Исходя из информации, представленной в таблице, рассчитать дозу ядовитых веществ на один килограмм веса, определить их класс опасности и пояснить, от каких обстоятельств зависит опасность химических веществ.

Таблица. Исходные данные для выполнения практической работы

№	Вес тела, кг	Количество вводимого вещества, мг	Расчетная доза вещества, мг/кг	Класс опасности вещества
1	2	2000		
2	2,5	3500		
3	3	1500		
4	1	3000		
5	2,8	600		
6	2,9	900		
7	2,6	4000		
8	0,3	500		
9	0,6	300		
10	0,7	600		
11	0,4	450		
12	0,2	25		
13	2	2		

### Задача

В вашу лабораторию поступили три пробы с токсикантами: иприт, тайпотоксин и ацетон. Сравнить их токсичность, определить класс опасности, указать летальную дозу для человека.

## Тест

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. Найдите синонимы к термину «яд»:

- а) пребиотик;
- б) токсикант;
- в) лекарственное вещество;
- г) ксенобиотик.

2. Стадии острого отравления:

- а) хроническая;
- б) острая;
- в) соматогенная;
- г) токсикогенная.

3. Найдите соответствия:

Класс токсиканта	Токсикант
1) Экзотоксиканты	а) индол
2) Эндотоксиканты	б) «кетоновые тела»
	в) тайпотоксин
	г) фаллотидин
	д) иприт
	е) диоксин
	ж) активные формы кислорода

4. Судебная классификация отравлений включает следующие типы:

- а) случайные;
- б) экзогенные;
- в) преднамеренные;
- г) пероральные.

5. Клинико-токсикологическая классификация отравлений включает следующие типы:

- а) подострые;
- б) трансдермальные;
- в) хронические;
- г) преднамеренные.

6. В качестве ответа на кривых «доза-ответ» могут быть использованы:

- а) активность ферментов;
- б) только летальность;
- в) масса тела;
- г) любой физиологический показатель.

7. Кривые «доза-ответ» могут быть представлены в координатах:

- а)  $\log(\text{доза})$  – пробит эффекта;
- б) доза – количество умерших особей;

- в) доза – активность фермента;
  - г) количество умерших особей – масса тела особей.
8. Раздел токсикологии, изучающий метаболизм химических веществ в организме, называется:
- а) токсикодинамика;
  - б) токсикокинетика;
  - в) токсикометрия;
  - г) экстремальная токсикология.

### **Лабораторная работа «Методы идентификации нитратов»**

**Нитратами** называют соли азотной кислоты, в широком изобилии содержащиеся в почве в виде азотных удобрений и накапливающиеся в растительных продуктах питания и воде. Установлено, что нитраты больше всего накапливаются в корнях, корнеплодах, стеблях, черешках, в плодах - меньше. Активно накапливают нитраты салат, зеленый лук, капуста, кабачки, редис.

Установлено, что нитраты сильно влияют на возникновение раковых опухолей в желудочно-кишечном тракте у человека и при длительном поступлении в организм человека уменьшают количество йода, что приводит к увеличению щитовидной железы.

Реакция с дифениламином может быть использована для выявления повышенного содержания нитратов непосредственно в овощах, например, в свекле.

**Цель работы:** Научиться качественно определять содержание нитратов в растительных объектах

**Объекты и оборудование.** Капуста, раствор дифениламина в серной кислоте, пипетки, ступка с пестиком, предметное стекло, стеклянные палочки.

**Ход исследования.** Навеску 0,1 г дифениламина растворить в 10 мл концентрированной серной кислоты. Взять наружный и внутренний листы кочана капусты. Кусочки листа наружного слоя растереть пестиком в ступке. Полученный капустный сок со смесью поместить на предметное стекло и добавить в нее несколько капель дифениламина. О содержании нитратов судить по изменению окраски.

При небольшом количестве нитратов капля растительного сока приобретает светло-голубую окраску, при большом количестве нитратов появляется темно-синяя окраска.

Повторить аналогичные действия для листа внутреннего слоя. На основании полученных результатов написать отчет и сделать вывод.

**Примечание!** В результате опыта в наружных листьях капусты содержание нитратов гораздо больше, чем во внутренних.

## Тема 2. Синтетические токсиканты. Токсины растений, животных и грибов

По своей классификации токсиканты могут быть **природного** или **синтетического** происхождения. К токсикантам природного происхождения относятся токсины, продуцируемые растениями, грибами, животными, бактериями. Экспериментальное изучение природных токсинов заключается в их выделении и исследовании химической структуры, а также в изучении механизмов их токсического действия на организм.

Ядовитыми являются растения, вырабатывающие **фитотоксины**, которые даже в малых дозах вызывают поражение организма и смерть.

Существует большое разнообразие классификаций фитотоксинов. Одна из классификаций основана на механизмах действия фитотоксинов:

- действие на центральную нервную систему (например, растения, в состав которых входит большое содержание сапонинов);
- действие на желудочно-кишечный тракт и одновременно на ЦНС и почки (например, растения, в состав которых входит большое содержание антрахинонов);
- действием на пищеварительный тракт и органы дыхания;
- действием на сердце (например, растения, в состав которых входит большое содержание карденолидов и буфадиенолидов);
- действием на печень;
- с признаками геморрагического диатеза;
- повышающие чувствительность к действию солнечного света (например, растения в состав которых входит большое содержание кумаринов);
- вызывающие нарушение солевого обмена;
- поражающие преимущественно сердечно-сосудистые, нервные центры и сердце;
- поражающие преимущественно почки и мочевыделительные пути;
- нарушающие процессы тканевого дыхания.

Наиболее совершенными и сложными среди всех растительных токсинов являются алкалоиды цветковых растений. Основные группы алкалоидов растений представлены в таблице 3.

Таблица 3. Основные группы алкалоидов и продуцирующие их растения

Группы алкалоидов	Важнейшие представители	Растения
Пиридиновые и пиперидиновые	Кониин Никотин Лобелии	Болиголов пятнистый Табак обыкновенный Лобелия (виды)
Пирролидиновые и пиперидиновые	Гиосциамин Скополамин	Белена черная Скополия карниолийская
Пирролизидиновые	Платифиллин Сенецифиллин	Крестовник плосколистный

Хинолиновые	Эхинопсин	Мордовник (виды)
Бензилизохинолиновые	Папаверин	Мак снотворный
Фенантренизохинолиновые	Морфин Кодеин	Мак снотворный
Дибензилизохинолиновые	Даурицин	Луносемянник даурский
Бензофенантридиновые	Хелидонин Сангвинарин	Чистотел большой
Индольные	Галантамин Винканин Эрготамина	Подснежник Воронова Барвинок (виды) Спорынья
Имидазольные	Пилокарпин	Пилокарпус (виды)
Пуриновые	Кофеин Теофиллин	Чай китайский, Кофе (виды)
Дитерпеновые	Аконитин Дельсимин	Борец (Аконит) (виды)
Стероидные	Соланидин Йервин	Картофель Чемерица Лобеля
Ациклические	Эфедрин	Эфедр хвощевая
Колхициновые	Колхицин	Безвременник великолепный

Кроме того, растения оказывают неодинаковое токсическое действие на различные организмы. Например, белладонна и дурман являются ядовитыми для человека. Однако они совершенно безвредны для большинства грызунов и некоторых птиц. Ягоды ландыша ядовиты для человека, однако в дикой природе лисицы используют их в качестве антигельминтного средства.

Отравление грибами происходит за счет ядовитых метаболитов – **микотоксинов**. При этом среди микроскопических грибов наиболее вредоносными являются «плесени» (Таблица 4).

Таблица 4. Токсическая характеристика некоторых микотоксинов

Организмы-продуценты	Микотоксины	Природные субстраты	Характер токсического действия
Аспергилл жёлтый	Афлатоксины B1, B2, G1, G2	Арахис, кукуруза и другие зернобобовые (семена), семя хлопчатника, орехи, овощи, растительные	Гепатотоксическое и гепатоканцерогенное, мутагенное, тератогенное и иммунодепрессивное

		корма	
Аспергилл охряный	Охратоксины В, В, С	Зерновые, кофе, сыры, корма	Нефротоксическое, тератогенное
<i>Pelargonium patulum</i>	Патулин	Фрукты, овощи и продукты их переработки (соки, пюре, джемы и др.)	Нейротоксическое, мутагенное, тератогенное
Физариум злаковый	Трихотеценовые микотоксины (более 40 соединений)	Зерновые, корма, сено и т. п.	Нейротоксическое, геморрагическое, лейкопеническое, иммунодепрессивное, дерматоксическое
Физариум злаковый	Зеараленонили F-2-токсин (производное лактона резорциловой кислоты)	Кукуруза, ячмень, пшеница, сорго, корма	Эстрогенное, тератогенное
Споринья	Эрготоксины	Зерновые	Нейротоксическое

Грибы (**макромицеты**) делятся на съедобные, условно-съедобные, практически несъедобные и ядовитые. Одним из примеров ядовитых грибов является свинушка, содержащая в своем составе токсичный для человека алкалоид мускарин, стимулирующий М-холинореактивные вегетативной нервной системы человека. Другим примером смертельно ядовитых грибов является бледная поганка, содержащая в своем составе аманитины и фаллоидины. Фаллоидин и аманитины действуют на печень, поражая эндоплазматический ретикулум (фаллоидин) и клеточное ядро гепатоцитов (аманитины). Фаллоидин, кроме того, еще обратимо блокирует калиевые-каналы возбудимых мембран, уменьшая выходящий калиевый ток в мышечных волокнах. Смертельно ядовитые строчки содержат в своем составе токсин N-метил-N-формацетат гидразона, известный также как гиромитрин.

Грибы обладают повышенной ферментативной активностью. Это значит, что, попадая в пищеварительный тракт, они резко усиливают секрецию и всасывание.

**Зоотоксикология** занимается изучением ядов, вырабатываемых животными, изучением их химической природы и механизмов их токсического действия на организм человека и животных.

Животных, вырабатывающих токсины, можно разделить на две группы: **активно-** и **пассивно-ядовитых**. У активно-ядовитых животных есть ядовитый аппарат (зубы у рептилий, жало у насекомых, колючки и шипы у рыб) с ранящим устройством. Такие животные в зоотоксикологии называются **вооруженными**. Среди активно-ядовитых животных есть и те, ядовитые аппараты которых лишены ранящего приспособления. Однако ранящими могут быть кожные железы, вырабатывающие ядовитый секрет. Такие животные называются **невооруженными**. У пассивно-ядовитых животных токсины вырабатываются в организме и накапливаются в различных органах и тканях (пищеварительных, половых). К таким животным можно отнести рыбу-фугу. Зоотоксины ввиду своей высокой токсичности называют ультраядами (Таблица 5).

При попадании в организм парентерально (через укусы) или перорально (при приеме пищи) токсины распределяются неравномерно. Неравномерность распределения токсина объясняется различиями в прохождении биологических барьеров (стенки капилляров, плазматические мембраны, гематоэнцефалический и плацентарный).

Таблица 5. Сравнительная токсичность различных ядов

Яд (токсин) и источник его получения DL50, мыши, мкг/кг	Яд (токсин) и источник его получения DL50, мыши, мкг/кг
<b>Цианид калия (для сравнения)</b>	10000
Нейротоксин яда кобры ( <i>Naja oxiana</i> )	75
Нейротоксин яда скорпиона ( <i>Androctonus australis</i> )	9
Тетродотоксин рыбы фугу ( <i>Tetraodon</i> sp.)	8
Батрахотоксин (кожный яд амфибий <i>Phyllobates</i> sp.)	2
Тайпоксин яда змеи <i>Oxyuranus scutellatus</i>	2
Ботулотоксин (бактерии)	0.0003

При парентеральном введении в месте введения токсина образуется первичное депо, из которого происходит его дальнейшее поступление в лимфатическую и кровеносную системы. При этом скорость поступления и распределения во многом определяет скорость развития токсического эффекта.

Группу синтетических токсикантов составляют пестициды, органические растворители и т.д. При этом, как правило, обычные **органические растворители** принадлежат к одной из групп: алифатические углеводороды (гексан), галогенированные алифатические углеводороды (хлороформ), алифатические спирты (этанол), гликоли и эфиры гликолей (этиленгликоль), ароматические углеводороды (бензол). Для них характерно один общий токсикологический эффект - угнетение функции центральной нервной системы. Галогенпроизводные ароматические углеводороды в большинстве случаев поражают печень,

активизируя ее микросомные ферменты. Фенолы отличаются некоторым разнообразием в зависимости от строения. Одноатомные фенолы, например, являются сильными нейротоксинами, поражают печень, почки и проникают в кожу. В случае с многоатомными фенолами происходит нарушение окислительного фосфорилирования. Альдегиды вызывают в высоких дозах нейротоксический эффект. При этом ненасыщенные альдегиды токсичнее, чем насыщенные. Пероксиды вызывают развитие гемолиза и метгемоглобинемии.

В связи с глобальным применением минеральных удобрений, средств защиты растений от вредителей и сорняков в сельском хозяйстве, все острее встает проблема исследования токсического действия **пестицидов**. По производственному назначению пестициды делятся на: акарициды, арборициды, альгициды, аттрактанты, афициды, гербициды, дефолианты, десиканты, зооциды, инсектициды, ихтиоциды, ларвициды, моллюскоциды, нематоциды, овициды, ретарданты, репелленты, фунгициды, хемотериянты.

Среди фосфоорганических соединений (**ФОС**) существуют три группы – производные фосфорной, тиофосфорной, дитиофосфорной, пиррофосфорной, фосфоновой кислот. Общим в действии ФОС является зависимость доза – эффект (с увеличением дозы токсиканта эффект усиливается) независимо от пути поступления. Большинство ФОС не ионизируются и являются липофильными, легко всасываясь при поступлении в организм всеми путями.

### Задание

Заполните таблицу, используя дополнительную литературу:

№ п/п	Группа	Примеры токсинов	Источник токсинов	Структурная формула	Токсикологическая характеристика	Методы детоксикации
1	Яды животных					
2	Яды растений					
3	Яды грибов					

### Задача

Турист путешествовал по Африке. Прекрасным солнечным днем он прогуливался по экотропе в саванне и случайно наступил на змею. Через некоторое время он почувствовал в месте укуса жгучую боль. Через несколько минут на месте укуса появился выраженный отёк. Спустя 10 минут у туриста началась сильная рвота и боль в животе. Появился странный привкус во рту. Через несколько минут наступил частичный паралич и остановка дыхания. Местные врачи диагностировали укус черной мамбы.

Основываясь на перечисленных симптомах, укажите вероятный класс токсиканта, опишите его механизм действия и возможную первую помощь при укусе.

## Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. Основными компонентами животных токсикантов являются:
  - а) Ферменты;
  - б) Стероиды;
  - в) Хиноны;
  - г) Полипептиды;
  - д) Гормоны.
2. К токсикантам, выделяемым из бледной поганки, относятся:
  - а) Фаллотоксин;
  - б) Папаверин;
  - в) Амаatokсин;
  - г) Фелидонин
  - д) Скатола.
3. Токсикант красного мухомора – мусцимол оказывает психоактивное действие на организм. Опишите принцип его токсического действия:
  - а) Стимулирование глициновых рецепторов;
  - б) Блокирование глициновых рецепторов;
  - в) Стимулирование ГАМК-рецепторов;
  - г) Блокирование ГАМК-рецепторов;
  - д) Стимулирование адренергических рецепторов.
4. К симптомам отравления эфедрином (алкалоид хвойника) относятся:
  - а) Судороги;
  - б) Желтуха;
  - в) Острый панкреатит;
  - г) Возбуждение ЦНС;
  - д) Коликообразные боли в животе.
5. При отравлении какими грибами наблюдается гиромитриновый синдром:
  - а) Строчками;
  - б) Бледной поганкой;
  - в) Красным мухомором;
  - г) Грибами рода свинушка
  - д) Сморчками.
6. Источником какого алкалоида может являться болиголов пятнистый:
  - а) Соланина;
  - б) Атропина;
  - в) Гиосциамин;
  - г) Кониин;
  - д) Амаatokсин.

7. Актинопорин, содержащийся в яде морских актиний, вызывают у млекопитающих:
  - а) Лизис эритроцитов;
  - б) Желтуху;
  - в) Отек легких;
  - г) Сердечный приступ;
  - д) Паралич.
8. Назовите алкалоиды, являющиеся производными пиримидина:
  - а) Никотин;
  - б) Папаверин;
  - в) Кофеин;
  - г) Теофиллин;
  - д) Сенецифиллин.
9. Характерной особенностью яда пурпурной улитки является:
  - а) Ингибирование холинэстеразы;
  - б) Брадикардия, удушье;
  - в) Удушье, тремор;
  - г) Тоншнота, рвота;
  - д) Остановка сердца.
10. Яд этого пресмыкающегося содержит серотонин, гилатид, аминоксидазу, фосфалипазу А и гиалуронидазу:
  - а) Скорпион;
  - б) Кобра;
  - в) Ящерица-ядозуб;
  - г) Тайпан;
  - д) Гадюка обыкновенная.

### **Лабораторная работа «Исследование влияния соли сульфата меди и сульфата цинка на коагуляцию животных белков»**

В основе токсического действия солей тяжёлых металлов на организм лежат три механизма. Первый механизм обусловлен связыванием солей тяжёлых металлов с функциональными группами биологически важных веществ организма. Ионы металлов образуют слабодиссоциирующие и нерастворимые соединения – меркаптиды, повреждая белки и нарушая функции организма. Второй механизм основан на вытеснении биогенных металлов из металлосодержащих комплексов, что приводит к их накоплению в организме и к нарушению нормального функционирования организма. Третий механизм обусловлен развитием окислительного стресса под действием тяжёлых металлов, являющихся активными окислителями-восстановителями.

**Цель работы:** оценить действие солей биогенных и не биогенных тяжелых металлов на животные белки.

**Оборудование, реактивы и материалы:** пробирки, пенициллиновые пробирки, стакан, пипетки на 1 мл и 5 мл, фильтровальная бумага, 0.5М раствор сульфата меди, 0.5М раствор сульфата цинка, дистиллированная вода, бычий сывороточный альбумин, этиловый спирт.

**Ход работы:** Приготовить растворы сульфата меди и сульфата цинка из исходного раствора методом последовательных разбавлений: 0.1М, 0.03 М, 0.01М, 0.003М.

Для сульфата меди: В 4 пробирки готовится по 1 мл раствора бычьего сывороточного альбумина концентрации 1 мг/мл. Затем в каждую пробирку прикапывают по 1 мл одного из растворов соли. Затем по наклонной стенке осторожно вливается 1 мл этилового спирта в каждую пробирку и перемешивается. На границе раздела раствор белка/спирт образуется осадок.

Для сульфата цинка: В 4 пробирки готовится по 1 мл раствора бычьего сывороточного альбумина концентрации 1 мг/мл. Затем в каждую пробирку прикапывают по 1 мл одного из растворов соли. Затем по наклонной стенке осторожно вливается 1 мл этилового спирта в каждую пробирку и перемешивается. На границе раздела раствор белка/спирт образуется осадок.

Результаты оформляются в виде таблицы. Оценивается концентрация, при которой происходит коагуляция белка.

### Тема 3. Введение в токсикометрию

Токсикометрия – важнейший раздел токсикологии – представляет собой систему принципов и методов для количественного определения токсичности и опасности химических соединений. Она включает в себя исследования по установлению смертельных исходов (базовый показатель), их зависимости от дозы вещества, выявлению и количественной характеристики кумулятивных свойств, изучению кожно-раздражающего, резорбтивного, сенсibiliзирующего действия, хронического воздействия на организм с учетом отдаленных эффектов. Все параметры токсикометрии делятся на первичные (экспериментальные) и вторичные (производные).

Числовым выражением зависимости смертельного эффекта от дозы вещества служат среднесмертельная (летальная) доза  $LD_{50}$  и среднесмертельная концентрация  $LC_{50}$ , о которых шла речь в Теме 1. При помощи среднесмертельной дозы оценивают абсолютную токсичность вещества при пероральном и парентеральном путях введения. Среднесмертельную концентрацию используют при оценке ингаляционных отравлений.

Важной токсикометрической величиной является **предельно допустимая концентрация (ПДК)**, при воздействии которой на организм не возникает заболеваний. Один из главных факторов, вызывающий развитие хроническую интоксикацию – **кумуляция** (способность токсиканта накапливаться в организме). Количественно кумулятивные свойства токсиканта выражаются величиной

**коэффициента кумуляции.** Способность живых объектов приспосабливаться к действию на них токсикантов называется **адаптацией**. Адаптация зависит от дозы токсиканта (достаточной, чтобы организм приспособился и при этом не опасной для его жизнедеятельности).

Опасность токсиканта для организма можно оценить на основании двух показателей: **критерий потенциальной опасности** и **критерий реальной опасности**. Потенциальная опасность токсиканта определяется по величине коэффициента возможного ингаляционного отравления (КВИО). О реальной опасности отравления токсикантом судят по величине **зоны острого действия** (чем она ниже, тем больше опасность острого отравления).

Токсикометрические исследования проводятся с изучением смертельных эффектов и подбираются в зависимости от пути его вероятного поступления.

### Задание

Исходя из представленных независимой комиссией данных по токсикометрическим исследованиям вещества X, постройте график зависимости «доза-эффект». Сделайте вывод на основании полученных данных.

Доза, мг/кг	Процент выживших животных, %							
	50	99,4	98,7	96,0	99,7	98,8	99,0	97,5
250	57,7	46,6	34,3	54,7	55,2	47,8	29,2	26,1
500	13,2	10,6	7,5	10,0	8,8	8,1	2,5	4,0
750	3,7	2,4	1,2	1,5	1,2	1,2	0,2	0,3
1000	0,9	0,5	0,5	0,2	0,1	0,1	0	0

### Задача

На месте преступления обнаружены три баночки с растворами. Их доставили в испытательную лабораторию для проведения анализа методом ИК Фурье спектроскопии. Из анализа стало известно, что в одной пробе содержится кодеин (алкалоид опиума), фентанила цитрат (опиоидный анальгетик) и этанол. Однако в ходе работы этикетки на пробах случайно перепутали. Помогите лаборанту по известным спектрам идентифицировать вещества.

- 1) Используя полученные ИК-спектры испытуемых веществ, идентифицируйте предполагаемый яд;
- 2) Ответ обоснуйте, сделав отнесение характеристических полос, соответствующих разным функциональным группам

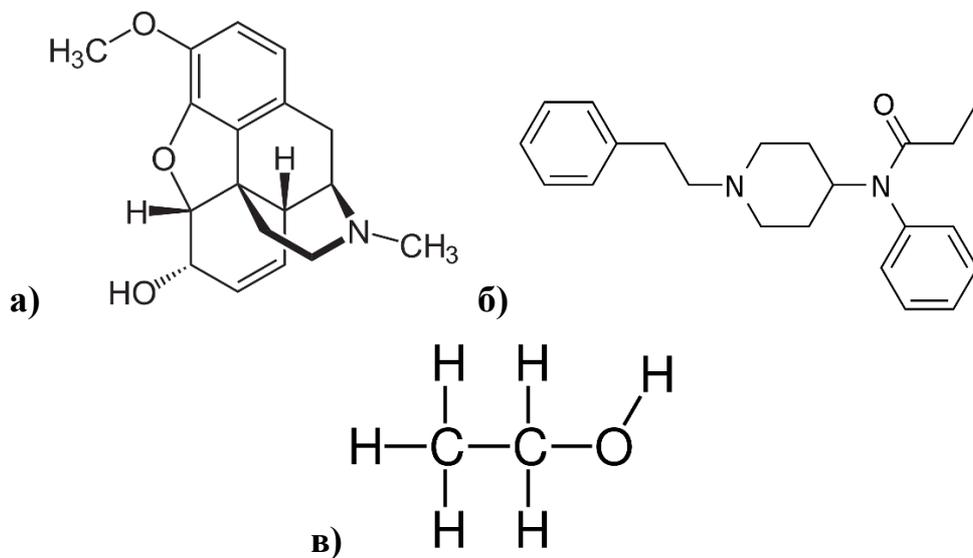
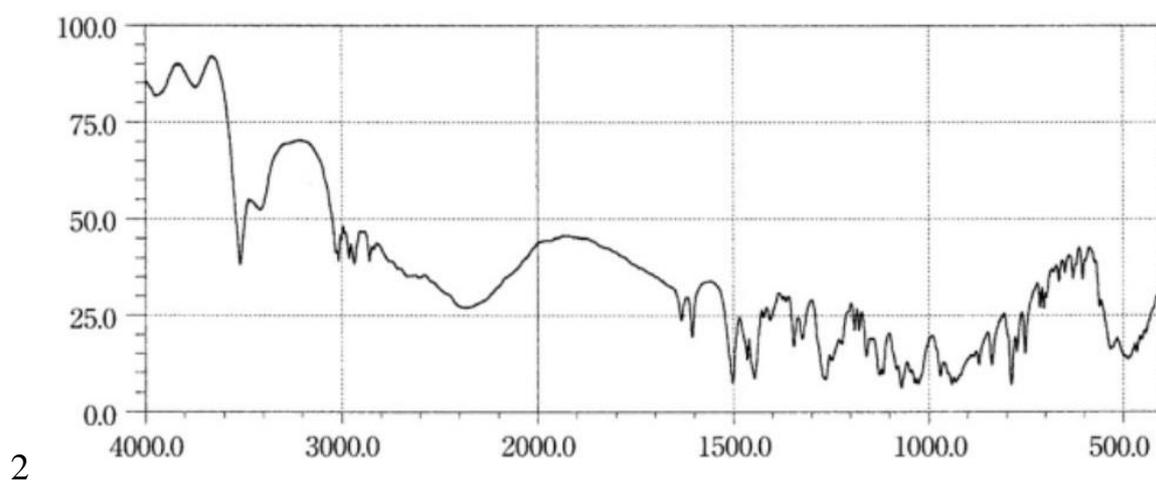
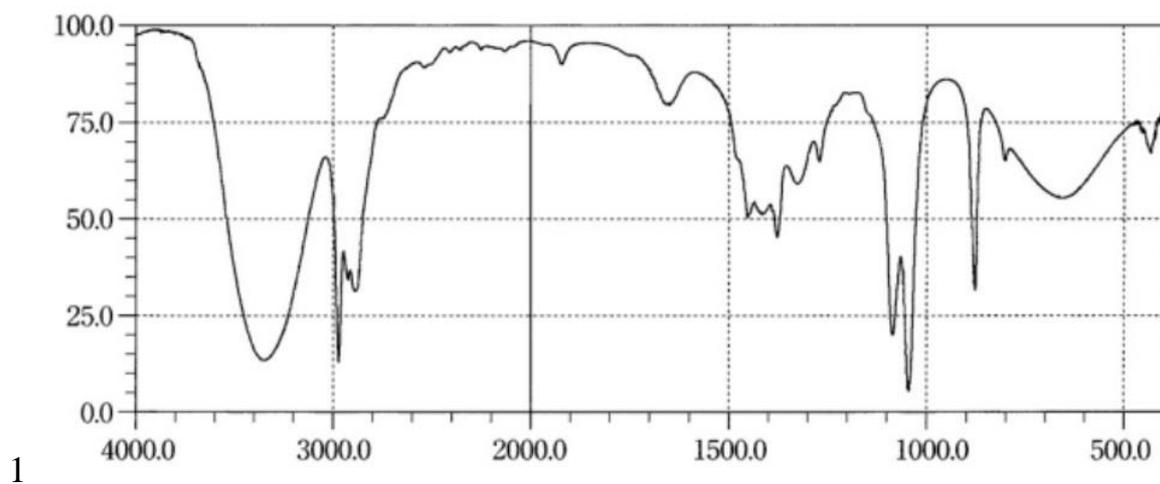
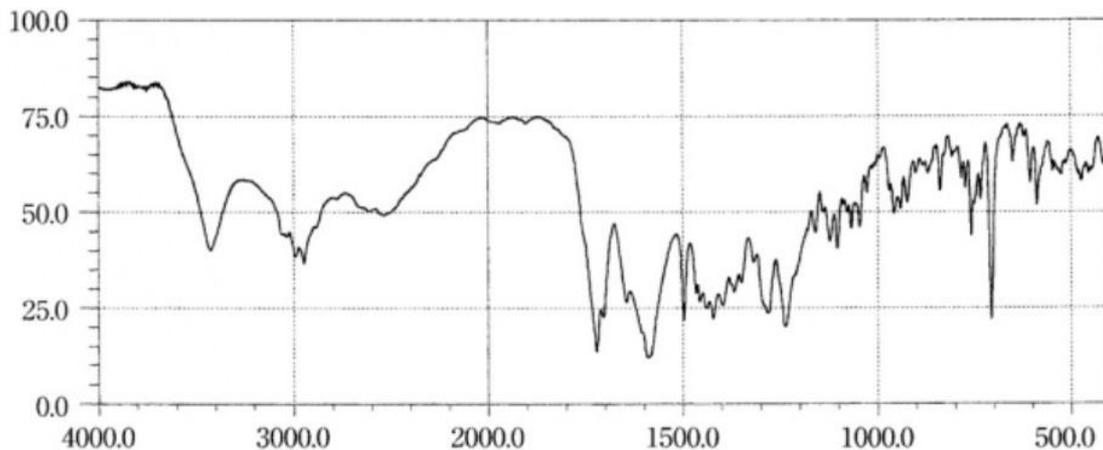


Рисунок 1 – Строение веществ: а - кодеина гидрофосфат, б – фентанила цитрат, в - этанол





3

### Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. Раздел токсикологии, изучающий методы количественной оценки токсичности и опасности химических веществ, называется:

- а) Токсикометрия;
- б) Токсикокинетика;
- в) Токсикодинамика;
- г) Токсикологическая химия

2. Какие виды химических связей обеспечивает обратимую связь «токсикант-рецептор»:

- а) ковалентные полярные;
- б) ионные;
- в) водородные;
- г) ван-дер-ваальсовы.

3. Токсикометрические параметры можно разделить на:

- а) производные;
- б) спонтанные;
- в) экспериментальные;
- г) летальные.

4. Укажите параметр токсичности, характеризующий дозу, вызывающую явные, но обратимые изменения показателей жизнедеятельности организма:

- а) среднесмертельная концентрация;
- б) пороговая доза;
- в) зона острого действия;
- г) КВИО.

5. Способность токсиканта накапливаться в организме характеризуется:

- а) ПДК;
- б) коэффициентом кумуляции;
- в) интенсивность кумуляции;

- г) зона биологического действия.
6. Выберите токсикологический показатель химического вещества, соответствующий минимальной дозе, при которой возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций:
- а) LD<sub>50</sub>;
  - б) Limac;
  - в) Limcr;
  - г) ПДК
7. Количество вещества, вызвавшее токсический эффект при попадании в организм, называется:
- а) Токсической дозой;
  - б) Предельно-допустимой концентрацией;
  - в) Разрешенной дозой;
  - г) Эффективной дозой
8. Количество токсиканта, вызывающее при попадании в организм смертельный исход, называется:
- а) Среднеэффективной дозой;
  - б) Среднесмертельной дозой;
  - в) Пороговой дозой;
  - г) Зоной острого действия.
9. Токсикологические исследования проводят в целях:
- а) выявления пораженных токсикантом органов и систем;
  - б) изучения механизмов действия токсикантов;
  - в) разработки методов профилактики отравлений;
  - г) установления параметров токсичности вещества.
10. Коэффициентом запаса показывает:
- а) во сколько раз ПДК токсиканта для человека меньше порога его хронического действия для животных;
  - б) дозу токсиканта, вызывающую гибель животного при внутрижелудочном введении;
  - в) минимальную дозу, вызывающую изменение биологических функций органов;
  - г) отношение пороговой концентрации при однократном воздействии к пороговой концентрации хроническом воздействии.

### **Лабораторная работа «Определение класса опасности веществ»**

В токсикометрическую лабораторию поступил образец почвы алюминиевого завода. Известно, что в 50 кг полученного образца содержится 7 кг хлористой ртути, 30 кг оксида алюминия и 6 кг олова.

**Цель работы:** применяя таблицу, рассчитать индекс опасности для каждого вещества

### Материалы:

Таблица. ПДК и растворимость веществ

Вещество	ПДК, мг/м <sup>3</sup>	S, г	Класс опасности	Эквивалент LD <sub>50</sub> мг/кг
Алюминия оксид	6	н.р.	IV	>5000
Хлористая ртуть	0.01	6.59	I	15
Олово	0.05	4.5	III	5000

Таблица. Классификация опасности токсикантов по индексу опасности

Расчетная величина общего индекса опасности	Класс опасности	Степень опасности
<1.2	I	Чрезвычайно опасные
от 1.2 до 2.2	II	Высокоопасные
от 2.2 до 10	III	Умеренно опасные
Более 10	IV	Малоопасные

**Ход работы:** для каждого из трех веществ рассчитывается индекс опасности по формуле:

$$K_i = \frac{\lg(LD_{50})}{(S_i + 0.1F_i + C_{bi})}$$

где  $S_i$  – коэффициент растворимости вещества (для нерастворимых  $S_i = 0$ ),  $F_i$  – коэффициент летучести (для нелетучих  $F_i = 0$ ),  $C_{bi}$  – содержание вещества в общей массе отходов.

Содержание вещества в общей массе отходов рассчитывается по формуле:

$$C_{bi} = \frac{C_i}{\sum C_b}$$

Определить суммарный индекс опасности по формуле:

$$K_{sum} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n K_i$$

Полученные данные занести в таблицу, по суммарному индексу опасности определить класс опасности и сделать вывод о полученных результатах.

### Тема 4. Введение в токсикокинетику

**Токсикокинетика** – раздел токсикологии, изучающий закономерности, а также качественные и количественные характеристики резорбции, распределения, биотрансформации ксенобиотиков в организме и их выделения.

В ходе поступления, распределения, выведения вещества осуществляются процессы его растворения, диффузии, конвекции в жидких средах, осмоса, фильтрации через биологические барьеры.

К основным токсикокинетическим показателям относятся: константа скорости абсорбции, константа скорости перехода, константа скорости экскреции, константа скорости элиминации. Кроме того, важными показателями также являются **период полуабсорбции, период полураспределения, период полуэлиминации** токсиканта из плазмы крови. Период полураспределения – время, в течение которого концентрация вещества в крови достигает половины равновесной. Степень захвата токсиканта из крови отражается **объемом распределения**. Кроме того, важным показателем распределения токсиканта в организме является **процент связывания** с белком плазмы (основной из которых альбумин). Важной токсикокинетической характеристикой токсикантов является их **биодоступность** (доля токсиканта, попавшая в системный кровоток).

Токсикокинетические характеристики вещества обусловлены его свойствами и особенностями структурно-функциональной организации клеток, органов, тканей и организма в целом.

Свойства токсикантов, определяющие его токсикокинетические показатели:

- агрегатное состояние;
- коэффициент распределения в системе «масло/вода» (**жирорастворимые** токсиканты накапливаются в липидах; **водорастворимые** токсиканты накапливаются в водной фазе плазмы крови, межклеточной и внутриклеточной жидкостях);
- размер молекулы (чем больше молекула, тем меньше скорость ее диффузии, тем в большей степени затруднены процессы фильтрации и т. д.);
- наличие заряда в молекуле (заряженные молекулы плохо проникают через ионные каналы, не проникают через липидные мембраны, не растворяются в липидной фазе клеток и тканей);
- величина константы диссоциации солей, слабых кислот и оснований;
- химические свойства.

На **всасывание** вещества в кровь, кроме пути поступления, влияют различные факторы: объем введения, форма, температура, рН, связывание с белком и т.д.

Всасывание, распределение и выведение токсиканта предполагает его растворение в жидкости (кровь, слизь) и прохождение через биологические барьеры организма путем диффузии, фильтрации, цитоза или активного транспорта. Неионной диффузией происходит транспорт преимущественно неионизированных липофильных соединений. Простая диффузия характерна для малых неполярных молекул и мелких полярных незаряженных соединений. Транспорт высокомолекулярных токсикантов осуществляется, как правило, белками-транспортёрами (транслоказами).

Большинство токсикантов поступают в организм **перорально**. Некоторые жирорастворимые соединения, например, фенолы и цианиды, всасываются уже в полости рта и проникают в кровь, минуя ЖКТ.

На всем своем протяжении желудочно-кишечный тракт имеет различные значения рН. Это значит, что в зависимости от отдела ЖКТ меняется скорость всасывания токсикантов. Желудочный сок имеет рН, близкий к единице. Таким образом кислоты, попадающие в желудок, будут находиться в нем в неионизированном состоянии и соответственно легко всасываться. Неионизированные основания, например, морфин, проникая в желудок, будут переходить в ионизированную форму и проникать в кишечник.

Скорость всасывания в желудке зависит от интенсивности кровообращения в его слизистой оболочке, перистальтики, образования слизи и др. В желудке токсиканты также могут сорбироваться и разбавляться пищевыми массами. Это значит, что контакт токсиканта со слизистой оболочкой желудка будет затруднен.

В тонком кишечнике (рН 7,5—8,0) происходит всасывание большинства токсикантов. Липидорастворимые вещества хорошо всасываются в кишечнике путем диффузии. В случае электролитов всасывание в кишечник связано с их ионизацией. Вещества, близкие по химическому строению к природным соединениям, хорошо всасываются через слизистую оболочку тонкой кишки путем активного транспорта или пиноцитоза. Комплексы металлов с белками плохо всасываются в тонком кишечнике. Всасывание через желудочно-кишечный тракт фосфоорганических соединений (ФОС), наоборот, протекает крайне быстро с максимальной концентрацией в крови от нескольких часов до нескольких суток. Распределяются ФОС в тканях организма крайне неравномерно. Однако известно, что при пероральном приеме ФОС наблюдается высокое его содержание в первую очередь в печени и легких.

**Ингаляционные** отравления характеризуются наиболее быстрым поступлением токсиканта в кровь.

Степень отравления газами и парами зависит от их гидро- и липофильности, а также от химической реактивности. Гидрофильные газы хорошо растворяются в воде, содержащейся в слизистой оболочке верхних дыхательных путей. Гидрофобные газы и пары достигают альвеол, абсорбируются на них и оказывают повреждающее действие. Скорость абсорбции таких токсикантов зависит от их растворимости в крови, скорости кровотока и интенсивности обмена веществ. Пары ртути при ингаляционном отравлении практически полностью абсорбируются в альвеолах легких. В случае с парами кадмия и неорганическими соединениями свинца абсорбируется в легких только половина полученной дозы.

Газообразные токсиканты, хорошо растворимые в крови, легко поглощаются легкими. Газообразные токсиканты, обладающие низкой растворимостью в крови, легко выделяются из легких с выдыхаемым воздухом.

Сорбция токсикантов через легкие зависит от их химической природы. Пары и газы нереагирующих веществ (углеводороды ароматического и алифатического рядов) в организме не изменяются, либо их изменения протекают медленнее, чем происходит накопление в крови. Пары и газы реагирующих веществ (аммиак, сернистый газ, оксиды азота), быстро растворяясь в жидкостях организма, легко вступают в химические реакции.

При **трансдермальном** пути проникновения токсикантов возможны три варианта проникновения: через эпидермис (характерно для неэлектролитов), через волосяные фолликулы (характерно для электролитов и неэлектролитов) и через выводные протоки потовых желез.

При этом количество токсиканта, проникающее в организм, напрямую зависит от его гидро- и липофильности, величины поверхности соприкосновения с кожей и скорости кровотока в ней. Кроме того, механические повреждения кожи, а также термические и химические ожоги способствуют увеличению проникновения токсикантов в организм.

Жидкие летучие органические токсиканты быстро испаряются с поверхности кожи и в организм не попадают. Например, при трансдермальном пути поступления степень поглощения ФОС зависит от дозы, площади поверхности, целостности кожи, гидрофобности вещества. Для многих липофильных ФОС всасывание через кожу очень высокое.

Твердые и кристаллические органические токсиканты могут всасываться через кожу, вызывая медленно отравление. Наибольшую опасность представляют малолетучие маслянистые вещества, которые хорошо проникают в кожу и длительно в ней задерживаются. Соли ртути и таллия, соединяясь с жирными кислотами и кожным салом, становятся жирорастворимыми соединениями и проникают через барьерный слой эпидермиса.

При попадании на кожу жидкий иприт быстро растворяется в липидной смазке кожи и проникает в слой эпидермиса, накапливается в сальных железах и волосяных фолликулах кожи, вызывая отравление и образование язвы.

Выведение токсикантов из организма может осуществляться различными путями – с мочой, калом, желчью, потом, рвотой, выдыхаемым воздухом (методом диффузии). При ингаляционных отравлениях основная часть токсиканта поступает в почки и выводится с мочой. При пероральных отравлениях в большинстве случаев токсикант накапливается в печени и выводится с калом. Жирорастворимые соединения, как правило, выводятся с потом и грудным молоком.

К основным механизмам выведения токсиканта через почки можно отнести фильтрацию, секрецию и реабсорбцию. Фильтрацией выводятся через гломерулярно-капиллярный барьер низкомолекулярные соединения, находящиеся в растворенном состоянии в плазме крови. Секрецией эпителия почечных канальцев выводятся из организма органические кислоты, мочева кислота,

некоторые сильные органические основания, тетраэтиламмоний. Реабсорбцией клетками эпителия из почек выводятся все жирорастворимые вещества, неионизированные молекулы органических кислот, электролиты.

### Задание

Классификация токсикантов по «избирательной токсичности» разделяет их по характеру действия на организм и указывает на опасность, которая грозит определенному органу или системе организма. Заполните таблицу, используя дополнительную литературу:

Токсиканты	Принцип действия	Примеры
«Сердечные» токсиканты		
«Нервные» токсиканты		
«Печеночные» токсиканты		
«Почечные» токсиканты		
«Кровяные» токсиканты		
«Желудочно-кишечные» токсиканты		

### Задача

В больницу города поступил пациент. Известно, что он отравился некоторым препаратом X, по ошибке принятым вместо аспирина. Со слов пациента принятая им доза препарата составила 0.5 г. В лаборатории больницы по взятому анализу крови установили, что концентрация препарата X в плазме крови пациента составила 0.1 мг/мл. Какова биодоступность данного токсиканта, если известно, что он распределяется только в плазме крови и не депонируется?

### Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. Абсорбция токсического газа, содержащегося во вдыхаемом воздухе, зависит от:

- а) растворимости токсиканта в крови;
- б) степени его ионизации;
- в) скорости кровотока;

г) константы растворимости  $K_p = \frac{C_{\text{кровь}}}{C_{\text{газ}}}$

2. Распределение токсиканта в тканях организма:

- а) зависит от скорости кровотока и размера органа;
  - б) зависит от растворимости химического вещества в ткани;
  - в) зависит от градиента концентрации между кровью и тканью;
  - г) увеличивается за счет его связывания с белками крови.
3. На абсорбцию токсиканта в желудочно-кишечном тракте влияют:
- а) диета;
  - б) период полувыведения токсиканта из крови;
  - в) рН содержимого желудка;
  - г) рН плазмы крови.
4. При вдохе частицы диаметром 1 мкм осаждаются на:
- а) альвеолах;
  - б) бронхах;
  - в) трахее;
  - г) носоглотке.
5. Свойство токсиканта, обуславливающее его пассивную диффузию через мембраны организма:
- а) молярная масса;
  - б) растворимость в воде;
  - в) фазовое состояние;
  - г) полярность.
6. Распределение токсиканта в тканях зависит от:
- а) скорости кровотока и размера органа;
  - б) растворимости токсиканта в тканях;
  - в) градиента концентрации токсиканта между кровью и тканью;
  - г) степени связывания с белками крови.
7. Чем определяется токсичность вещества?
- а) его физико-химическими свойствами;
  - б) дозой;
  - в) концентрацией вещества в организме;
  - г) способом и скоростью поступления вещества;
  - д) полом и массой тела.
8. Наиболее токсичные вещества:
- а) гидрофильны;
  - б) липофильны;
  - в) быстро выводятся из организма;
  - г) легко проникают через барьеры организма.
9. Уравнения какого порядка лежат в основе токсикокинетики?
- а) нулевого;
  - б) первого;
  - в) второго;
  - г) третьего.

10. Показатель, характеризующий попадание токсиканта в системный кровоток:

- а) клиренс;
- б) биодоступность;
- в) период полувыведения;
- г) объем распределения.

### Лабораторная работа «Определение ртути в биологических жидкостях»

Сотрудница завода по производству ртутных термометров пожаловалась врачу-профпатологу на постоянную головную боль, слабость, снижение трудоспособности. Врач заподозрил отравление ртутью и назначил сдать мочу на определение ее содержания.

**Цель исследования:** провести химико-токсикологический анализ и определить уровень ртути в организме больной

**Ход исследования:** 200 мл мочи помещают в термоустойчивую колбу, добавляют 25 мл концентрированной серной кислоты, добавляют 7 г  $\text{KMnO}_4$  (перманганата калия) понемногу при перемешивании. Раствор оставляют на 40 минут, после чего добавляют насыщенный горячий раствор щавелевой кислоты и 10 мл  $\text{Cu}_2\text{I}_2$  — взвесь. Цвет определяют по таблице.

Таблица.

Количество $\text{Hg}^{2+}$ (мг)	Окраска взвеси		Объем (мл) раствора йода для растворения $\text{Hg}^{2+}$
	10 мл	40 мл	
0,001–0,005	Бесцветная	-	6
0,01–0,025	Светло-розовая	Бесцветная	10
0,05–0,1	Розовая	Светло-розовая	20
0,2–0,5	Кирпично-красная	Розовая	50
0,5–1,0	Кирпично-красная	Ярко-розовая	50
2,0	Кирпично-красная	Кирпично-красная	100

В норме содержание ртути в моче до 0,04 мкмоль/л.

## Тема 5. Механизмы цитотоксичности

Наиболее распространенными методами оценки токсичности *in vitro* являются тест-системы с использованием культур клеток. На основании токсического действия вещества на клеточную культуру, можно сделать вывод о его цитотоксичности. **Цитотоксичность** - свойство химических веществ или физических воздействий вызывать патологические изменения в клетках (вызывать ее гибель или нарушать прохождение клеточного цикла).

Химические вещества на клеточном уровне могут оказывать токсическое действие трёх типов:

- **общая** цитотоксичность (затрагивает хотя бы одну из жизненно важных клеточных функций, процессов, органелл);
- **селективная** цитотоксичность (повреждает определённые типы дифференцированных клеток, которые более чувствительны к определённому токсическому соединению, чем остальные клетки);
- **специфическая** цитотоксичность (обусловлена воздействием токсического вещества на структуры или процессы, не жизненно необходимые для самой клетки-мишени, но являющиеся критическими для организма в целом).

Цитотоксичность выражается в повреждении целостности биологических мембран и цитоскелета, нарушении синтеза, деградации или освобождения важнейших биомолекул, ионного гомеостаза (Таблица 6), энергетического статуса клеток и клеточного деления.

Механизмов, ответственных за нарушение токсикантом энергетического обмена в клетке, много, и все они приводят к ее гибели. Наиболее чувствительными к такому действию являются клетки нервной системы, почек и миокарда. Непрямым механизмом повреждающего действия на энергообмен является повреждение систем транспорта кислорода в организме и понижение парциального давления в тканях организма. Некоторые токсиканты (хлорфенолы) взаимодействуют с активными центрами энзимов, которые регулируют биологическое окисление и фосфорилирование, и нарушают эти процессы. Ингибирование энзимов цикла трикарбоновых кислот является пагубным для клеток. Токсиканты, блокирующие элементы ферментов дыхательной цепи, также являются губительными. К таким токсикантам относятся цианиды.

Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция с существенным его повышением в цитоплазме лежит в основе клеточной гибели при острых отравлениях. Нарушение механизмов поддержания гомеостаза внутриклеточного кальция может стать следствием повреждения биологических мембран и увеличения их проницаемости для ионов, нарушения биоэнергетики клетки, изменения состояния белковых комплексов, образующих каналы для  $Ca^{2+}$ .

Таблица 6. Нарушение гомеостаза кальция токсикантами

Нарушения	Токсиканты
Высвобождение $Ca^{2+}$ из митохондрий	Динитрофенол, хиноны, динитрокрезол, перекиси, железо, кадмий
Высвобождение $Ca^{2+}$ из ЭПР	Бромбензол, перекиси, хиноны, альдегиды
Усиление инфлюкса $Ca^{2+}$ через цитоплазматическую мембрану	Четыреххлористый углерод, диметилнитрозамин, парацетамол
Угнетение $Ca^{2+}$ из клетки	Хиноны, цистамин, ванадий, перекиси

Цитотоксический эффект при этом связан с повреждением целостности цитоскелета, активацией фосфолипаз, протеаз и эндонуклеаз.

Следует выделить два механизма повреждения токсикантами мембранных структур: активация перекисного окисления липидов и активация фосфолипаз. В результате активации фосфолипаз происходит гидролиз фосфолипидов, приводящее к разрушению мембраны и высвобождению арахидоновой кислоты. Превращение арахидоновой кислоты в эйкозаноиды приводит к активации воспалительных процессов в тканях.

Некоторые ксенобиотики, попав в организм, подвергаются образованию метаболитов, пребывающих в организме в форме свободных радикалов. Такие метаболиты готовы к взаимодействию с объектами-мишенями. Характер повреждения свободных радикалов определяется стабильностью и расстоянием, на которое он может мигрировать от места образования. Например, метаболиты пирролизидиновых алкалоидов могут мигрировать из печени в легкие. Хлороформ обладает является слабым источником свободных радикалов из-за низкой способности к реакционному восстановлению. А четыреххлористый углерод, наоборот, метаболизируется в трихлорметильный свободный радикал.

В основе нарушений токсикантами процессов синтеза белка, клеточного деления и передачи наследственной информации лежит повреждение молекул РНК и ДНК (Таблица 7). Так, например, тиоловые яды взаимодействуя с SH-группами могут повреждать митотическое веретено и нарушать деление клетки.

Таблица 7. Нарушение процессов синтеза белка и клеточного деления.

<b>Нарушение</b>	<b>Процесс</b>
Синтез ДНК. Репликация	Изменение конформации ДНК Нарушение процесса поляризации ДНК Нарушение синтеза нуклеотидов Нарушение процесса репарации ДНК Нарушение регуляции синтеза ДНК
Синтез РНК. Транскрипция	Нарушение РНК Нарушение полимеризации РНК Нарушение процессии РНК Нарушение синтеза нуклеотидов Нарушение механизмов регуляции РНК
Синтез белка. Трансляция	Нарушение организации и процессии рибосом и полисом Нарушение полимеризации аминокислот Нарушение конформации белка и его третичных и четвертичной структур Нарушение механизмов регуляции трансляции

Результатом токсического действия вещества на ДНК является мутагенез. Некоторые вещества вызывают мутации у клеток в определенной фазе цикла

(цикло-специфические). Цикло-неспецифические мутации характерны токсикантам, действующим на генетический аппарат вне зависимости от цикла.

Поскольку особенности структуры и функции групп клеток, формирующих различные органы и ткани, крайне существенны, а чувствительность этих клеточных типов к токсическим соединениям может очень сильно различаться, в тестах *in vivo* используют клеточные линии, в зависимости от цели исследования.

### Задание

Заполните таблицу, изучив методики определения цитотоксичности:

Краситель	Выявление повреждений у клетки	Механизм действия и интерпретация результата
Флуорисцеина диацетат		
Соли тетразолия		
Эфиры ацетооксиметила		
Резазурин		
Нейтральный красный		
Трипановый синий		

### Задача

В лабораторию поступила культура клеток. При окрашивании трипановым синим лаборант наблюдает окрашенные в синий цвет клетки и неокрашенные. Какие клетки являются живыми? Какой принцип лежит в окрашивании клеток?

### Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. Свойство токсикантов вызывать патологические изменения в клетках называется:
  - а) цитотоксичность
  - б) «бабблинг»
  - в) генотоксичность
  - г) вирулентность
2. Генотоксичность вещества проявляется в нарушении целостности:
  - а) лизосом
  - б) молекулы ДНК
  - в) митохондрий
  - г) аппарата Гольджи
3. Повышение проницаемости мембран клеток может привести к:
  - а) поступлению в клетку ионов натрия
  - б) окрашиванию содержимого трипановым синим
  - в) изменению концентрации ионов кальция

- г) выходу из клеток ферментов
- 4. Повреждение мембран лизосом приводит к:
  - а) подавлению тканевого дыхания
  - б) повышению процессов гидролиза в клетке
  - в) активации синтеза нуклеиновых кислот
  - г) изменению мембранного потенциала
- 5. Трансмембранный перенос токсиканта осуществляется путем:
  - а) активного транспорта;
  - б) фильтрации;
  - в) фагоцитоза;
  - г) пассивной диффузии.
- 6. Клетки, имеющие выраженную флуоресценцию при окрашивании флуорисцеином можно считать:
  - а) мертвыми;
  - б) живыми;
  - в) готовыми к делению;
  - г) с повышенными процессами гидролиза.
- 7. При оценке дыхательной активности клетки с помощью формазана:
  - а) захват красителя происходит в живых и активных клетках;
  - б) окрашиваются клетки, в которых начался процесс деления;
  - в) захват красителя происходит в мертвых клетках;
  - г) окрашиваются только вакуоли.

### **Лабораторная работа «Воздействия токсикантов на целостность клеточной мембраны и оценка выживаемости клеток»**

Клеточная мембрана – одна из главных мишеней для большинства токсических соединений. Наиболее часто цитотоксическое действие вещества проявляется в нарушении целостности клеточной мембраны. В результате этого нарушения содержимое клетки выходит в межклеточное пространство, вызывая гибель клетки.

Большинство тестов оценки цитотоксичности основано на проникновении красителя в клетку при нарушении целостности мембраны. В норме при целой мембране клетки непроницаемы для красителя. По оптическим свойствам красители можно разделить на красители для видимого света и флуорохромы. По химическим свойствам красители бывают кислотными (феноловый красный, цианол, трипановый синий, литиевый кармин) и основными (нейтральный красный, метиленовый синий). Проникая в клетки, некоторые красители диффузно окрашивают цитоплазму. Однако есть и такие, которые откладываются в виде гранул в области аппарата Гольджи. Ядро и цитоплазма при этом остаются неокрашенными.

Для оценки жизнеспособности клеток в данной работе используется трипановый синий. Методика определения довольно простая - при введении водного раствора трипанового синего в суспензию культивируемых клеток, клетки с поврежденной плазматической мембраной окрашиваются в синий цвет, а живые клетки остаются неокрашенными. Кроме того, мертвые клетки открепляются от дна культурального планшета, что также позволяет упростить подсчет и визуализацию при оценке количества выживших после воздействия клеток.

**Цель работы:** оценить действие метанола на целостность мембраны клеток.

**Оборудование, реактивы и материалы:** культура клеток в культуральном флаконе, пипетки на 10 и 200 мкл, 0.4% раствор трипанового синего в физрастворе, слайды для счетчика клеток, метанол

**Ход работы:** к клеткам в культуральном флаконе добавить по капле метанола. Через 3 часа отобрать питательную среду в центрифужную пробирку и отцентрифугировать. Отобрать питательную среду и промыть клетки 1 мл теплого физраствора. Добавить в лунки диссоциирующий раствор (50 мкл), дождаться открепления клеток от подложки и собрать их с помощью PBS (дважды по 1 мл) в ту же пробирку; тщательно ресуспендировать клетки в центрифужной пробирке и отобрать аликвоту клеточной суспензии (1000 мкл) в микроцентрифужную пробирку, добавить раствор трипанового синего (100 мкл); инкубировать клетки с трипановым синим в течение 5 минут; в это время подготовить камеру Горяева: обезжирить этанолом и притереть покровное стекло до появления колец Ньютона; по окончании инкубации осторожно ресуспендировать клетки с помощью мешалки Вортекс и отобрать 30 мкл суспензии клеток в камеру Горяева; посчитать количество неокрашенных и окрашенных клеток в 16 больших квадратах камеры Горяева.

Написать отчет о проведенной работе.

## **Тема 6. Механизмы токсического действия вредных веществ**

**Токсикодинамика** – раздел токсикологии, изучающий механизмы токсического действия вещества на организм и отражающий результаты этого действия. Выделяют несколько вариантов токсического действия ксенобиотиков: антиферментное действие, неэлектролитное действие, мембранотропное действие, влияние на геном, влияние на энергетический обмен, влияние на нейромедиаторные системы.

Токсикодинамика тесно связана с проведением токсикологического анализа, основная задача которого в максимально быстрые сроки получить достоверную информацию о присутствующем токсиканте в организме. На основании него врачом ставится диагноз и назначается лечение. К биологическим объектам,

предоставляемым на анализ, относятся моча, слюна, пот, кровь, рвотные массы, фекалии.

В аналитической токсикологии вещества можно классифицировать на 6 групп на основании метода их изолирования из организма. **Первая группа** – вещества, изолируемые микродиффузией и методом дистилляции (алифатические спирты, этилен, хлороформ, дихлорэтан, четыреххлористый углерод, толуол, бензол, формальдегид, ацетон и т.д.). **Вторая группа** – «металлические яды» - соединения бария, свинца, ртути, кадмия, таллия, марганца, цинка. Для их изолирования применяют минерализацию биообъектов. **Третья группа** – вещества, изолируемые водой с последующим диализом (минеральные кислоты, едкие щелочи, соли некоторых минеральных кислот и оснований). **Четвертая группа** – вещества, требующие специальных методов изолирования (кремнефториды, фосфид цинка, тетраэтилсвинец). **Пятая группа** – газообразные вещества (оксид углерода, метан, пропан, диоксид углерода). **Шестая группа** – группа органических ядов (наркотических средств, психотропных и сильнодействующих препаратов, ядовитых веществ, лекарственных препаратов) – вещества, изолируемые органическими растворителями.

Нейротоксичность присуща основной массе известных отравляющих веществ, поскольку острая интоксикация сопровождается нарушениями функций нервной системы. Вещества, которые приводят к острым нейротоксическим процессам в ЦНС (гиперактивация или угнетение нервных структур, дезорганизация), принято называть **нейротоксикантами**. Кроме того, некоторые такие вещества могут вызывать различные двигательные расстройства и эпилептические припадки (Таблица 8), которые могут быть обусловлены нарушениями тонуса, сократительной активности и координации движения скелетной мускулатуры.

Таблица 8. Средства, индуцирующие двигательные расстройства и эпилептические припадки.

Токсикант	Эффект
Кофеин	Миоклонические подергивания, эпилептические припадки
Амфетамин	Гиперкинетические движения, эпилептические припадки
Кокаин	Подергивания, тремор, эпилептические припадки
Литий	Гипертония, дистония языка, тремор
ФОС	Вялость
Стрихнин	Ригидность, тризм, эпилептические припадки
Фентанил	Эпилептические припадки

Одними из известных нейротоксикантов являются **фосфорорганические соединения (ФОС)**, поскольку большинство из них хорошо растворимы в липидах

и хорошо проходят гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). ФОС взаимодействует с гидроксильной группой фермента ацетилхолинэстеразы. Продукт такого взаимодействия является очень прочным и не подвергается гидролизу. Тормозится процесс гидролиза ацетилхолина. Это ведет к тому, что ацетилхолин вызывает перевозбуждение холинорецепторов, оказывая на них непрерывное действие. Это приведет к развитию в организме судорожного синдрома.

Другой (не менее известный) класс нейротоксикантов представлен **гидразином и его производными**. Одним из крайне токсичных производных гидразина является несимметричный диметилгидразин (НДМГ), широко применяемый в качестве ракетного топлива по всему миру. Нейротоксическое действие НДМГ проявляется во взаимодействии с пиридоксалем клеток и в снижении содержания пиридоксальфосфата в тканях головного мозга. В результате взаимодействия образуются пиридоксальгидразоны, которые способны угнетать активность пиридоксалькиназы и блокировать тем самым синтез пиридоксальфосфата.

Токсикология **«металлических ядов»** рассматривает вещества, способные блокировать сульфгидрильные группы белков и нарушать этим обменные процессы в организме. Токсичность металла напрямую зависит от его физико-химических свойств (гидрофильность и липофильность образованных комплексов) и увеличивается с увеличением его атомного веса. В основе механизма действия таких ядов лежит блокирование функциональных активных сульфгидрильных (а также аминных, карбоксильных и т.д.) групп белков-ферментов. Кроме того, тиоловые яды нарушают проницаемость клеточных мембран, нарушают пространственную конформацию ферментов и активность различных биомолекул, конкурируют с микроэлементами организма.

Нейротоксичность тиоловых ядов связана с их способностью проникать через ГЭБ и накапливаться в различных отделах нервной системы и головного мозга. Кардиотоксичность обусловлена воздействием на сердце и сосуды. Кроме того, металлические яды оказывают влияние на почки и мочевыводящие пути (при отравлении активный скрининг почек и всей мочевыделительной системы обязателен).

Среди специфических проявлений токсического действия веществ важное место занимают **«яды крови»**. Выделяют три основные их разновидности: вызывающие заболевания, с изменением пигмента крови (оксид углерода), вызывающие первичный гемолиз (производные гидразина), вызывающие угнетение гемопоэза (свинец). Гемотоксичность во всех случаях проявляется в результате вмешательства в обмен порфиринов за счет инактивации гемоглобина. В результате такого действия гемоглобин не может обратимо присоединять кислород и осуществлять его транспортировку по тканям. Классическим таким примером служит образование карбоксиметилгемоглобина под действием оксида углерода.

Гемолитические токсиканты можно также разделить на действующие на цитоплазматическую мембрану эритроцитов (тиоловые яды, тринитротолуол) и вызывающие гемолиз. В первом случае происходит блокирование сульфгидрильных групп белков мембраны эритроцитов, нарушая ее стабильность путем снижения уровня восстановленного глутатиона. Во втором случае угнетается активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, что также приводит к снижению уровня восстановленного глутатиона.

### Задание

Среди наиболее угрожающих для жизни синдромов поражения и нарушения функций центральной нервной системы является токсическая кома. Используя дополнительную литературу, опишите принцип работы шкалы оценки тяжести комы Глазго (The Glasgow Coma Scale, GCS). Перечислите токсиканты, которые способны вызвать развитие токсической комы.

### Задача

При анализе ситуационной задачи ответить на следующие вопросы:

1. Какое вещество наиболее вероятно вызвало отравление?
2. Какие условия способствуют отравлению данным препаратом?
3. Описать механизм токсического действия.
4. Укажите, какими методами необходимо изолировать данные соединения из присланного материала и какими методами обнаружить их. На чем основана методика определения соединений данной группы?
5. Меры профилактики отравлений соединениями данной группы.

Задача 1.

**Для лабораторного исследования доставлены:** моча — 200 мл, кровь — 10 мл.

**Краткая история болезни:** Технолог А., работающий 15 лет на предприятии по производству красителей на основе соединений кадмия, проходил плановый профилактический осмотр. В ходе обследования врачом была установлена деформация скелета и нарушение функции почек. Врач заподозрил отравление кадмием.

**Цель исследования:** провести химико-токсикологическое исследование на соединения кадмия.

Задача 2.

**Для лабораторного исследования доставлены:** моча — 200 мл, кровь — 10 мл.

**Краткая история болезни:** электросварщик Ю., работавший 5 лет на заводе по производству сплавов в цеху сварки хромо-никелевых сталей, пожаловался профпатологу на боли в сердце. У больного была диагностирована хроническая ишемическая болезнь сердца, а также изменения в легких и бронхах.

**Цель исследования:** провести химико-токсикологическое исследование на соединения хрома.

Задача 3.

**Для химико-токсикологического исследования доставлены:** моча — 200 мл, кровь — 10 мл.

**Краткая история болезни:** в городскую больницу был доставлен охранник радиозавода. Состояние больного оценивается как тяжелое. У больного наблюдаются неукротимая рвота, жалобы на сильную боль в мышцах. Больной рассказал, что случайно перепутал кружки и выпил полчаса назад полстакана (около 100 г) флюса для пайки черных металлов.

**Цель исследования:** провести химико-токсикологическое исследование на соединения цинка.

Задача 4.

**Для химико-токсикологического исследования доставлены:** моча — 200 мл, кровь — 10 мл.

**Краткая история болезни:** оператор установки размола ферросплавов попал в кардиологическое отделение больницы с жалобами на боль в груди. Однако в ходе осмотра он пожаловался также на быструю утомляемость и головную боль. В результате его перевели в пульмонологическое отделение, поскольку рентгеноскопия показала серьезное поражение легочной ткани.

**Цель исследования:** провести химико-токсикологическое исследование на соединения марганца.

**Приложение 1.** Реакции по определению «металлических» токсикантов в пробе.

### **Марганец**

1. Реакция с периодатом калия;
2. Реакция с персульфатом аммония.

### **Хром**

1. Реакция с дифенилкарбазидом;
2. Реакция образования надхромовой кислоты.

Примечание: предварительно хром (III) переводят в хром (VI).

### **Кадмий**

1. Реакция получения CdS;
2. Реакция получения гексацианоферрата (II) кадмия;
3. МКС-реакция с бруцином и KBr.

### **Цинк**

1. Реакция с дитизоном;
2. Реакция с гексацианоферратом (II) калия;

3. Реакция образования сульфида цинка;
4. Реакция образования тетрароданомеркурата (II) цинка.

### Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. При хроническом отравлении свинцом, накопление его происходит преимущественно в:

- а) печени;
- б) почках;
- в) косной ткани;
- г) селезенке;
- д) глазе.

2. Органом-мишенью кадмия является:

- а) желудок;
- б) легкие;
- в) поджелудочная железа;
- г) щитовидная железа;
- д) почки.

3. Мышьяк и щелочи относятся к:

- а) «Нервным» токсикантам;
- б) «Печеночным» токсикантам;
- в) «Почечным» токсикантам;
- г) «Кровяным» токсикантам;
- д) «Желудочно-кишечным» токсикантам.

4. Дихлорэтан, бледная поганка, фенол и альдегид относятся к:

- а) «Нервным» токсикантам;
- б) «Печеночным» токсикантам;
- в) «Почечным» токсикантам;
- г) «Кровяным» токсикантам;
- д) «Желудочно-кишечным» токсикантам.

5. Назовите орган-мишень пирролизидина (алкалоид бузульника):

- а) Почки;
- б) Печень;
- в) ЦНС;
- г) Сердце;
- д) Кровь.

6. Какое действие на организм оказывают токсины рыбы-дракона:

- а) Ингибирование холинэстеразы;
- б) Брадикардия, удушье;
- в) Повышение АД, судороги;

- г) Тошнота;
  - д) Сходно с действием сердечных гликозидов.
7. На интенсивность действия токсиканта на организм влияет:
- а) путь поступления;
  - б) доза;
  - в) химическая природа токсиканта;
  - г) скорость элиминации;
  - д) авитаминоз.
8. Выберите рецепторы токсичности:
- а) железо в гемоглобине;
  - б) SH-группы ферментов;
  - в) белки клеточных мембран;
  - г) гормоны;
  - д) оксигруппа серина в ацетилхолинэстеразе.
9. Укажите основной механизм токсического действия фосфоорганических соединений:
- а) блокада ацетилхолинэстеразы;
  - б) антисеротониновое действие;
  - в) возбуждение адренергических отделов нервной системы;
  - г) цитотоксическое действие;
  - д) подавление адренергических отделов нервной системы.
10. Токсическое действие окиси углерода проявляется в:
- а) оказании наркотического действия на кору головного мозга;
  - б) оказании токсического действия на почки;
  - в) взаимодействии с гемоглобином с последующим образованием карбоксиметилгемоглобина;
  - г) оказании прямого гепатотоксического действия;
  - д) взаимодействии с цитохромами с последующим образованием карбоксиметилгемоглобина.

### **Лабораторная работа «Использование дождевых червей для оценки токсичности загрязненной почвы»**

Главной причиной пагубного действия на биологические объекты загрязненной нефтепродуктами почвы является токсическое действие углеводородов нефти и изменение физико-химических свойств почвы. Влияние нефтяных загрязнений на физико-химические свойства почвы связано главным образом с сильным увеличением гидрофобности почвы. Это значит, что после контакта с нефтепродуктами почва утрачивает способность впитывать и удерживать влагу. В результате нарушается водный и воздушный баланс почвы.

Дождевые черви, обитающие в почве, контактируют с почвенными частицами, воздухом и влагой. Контакт происходит за счет кожного покрова

червя. Кроме того, перерабатывая и накапливая большое количество почвы, червь поглощает почву перорально. Таким образом, дождевые черви подвергаются прямому влиянию неорганических и органических веществ, находящихся в почве.

Соответственно, влияние на дождевых червей нефтепродуктов при загрязнении почвы можно разделить на прямое (непосредственное токсическое или стимулирующее действие углеводов и других веществ, содержащихся в нефти) и косвенное (через изменение физико-химических свойств почвы).

В ходе лабораторной работы оценку токсичности почвы на дождевых червях проводят по методу, основанному на исследовании их выживаемости при воздействии дизельного топлива.

**Цель работы:** оценить степень воздействия экзотоксикантов на почву с помощью дождевых червей.

**Материалы исследования и реактивы:** земля городская, дизельное топливо, взрослые дождевые черви.

**Оборудование:** емкости пластиковые для культивирования дождевых червей, марля

**Ход работы.** В ходе работы следует использовать 4 почвенных образца: почва, загрязненная дизельным топливом в концентрации 5, 10, 25 г/кг и контрольная чистая почва. Для этого в каждую емкость помещают исследуемые почвенные образцы (около 0.5 кг) и увлажняют их до 15% содержания по весу. Влажность почвы должна быть постоянна в процессе инкубации. Для этого на контейнеры необходимо надеть марлю. В каждый контейнер добавляют по 10 червей и культивируют их при 10-14°C. Используются взрослые дождевые черви. Численность выживших червей наблюдают через 7 и 14 дней. Полученные результаты заносят в таблицу.

Показателем выживаемости служит среднее количество червей, выживших в тестируемой почве, по сравнению с контролем (чистая почва). Критерием высокой токсичности является гибель 50% и более дождевых червей в тестируемой почве по сравнению с контролем. По окончании работы пишется отчет и делается вывод о влиянии загрязнителя на токсичность почвы и зависимости токсического эффекта от его концентрации.

## **Тема 7. Антидоты и механизмы их действия**

Антидотная терапия является частью мероприятий терапии острых отравлений. Терапия при острых отравлениях включает в себя как естественную детоксикацию организма, так и применение антидотов. К естественной детоксикации организма относятся промывание желудка зондами, очищение кишечника, форсированный диурез и лечебная гипервентиляция. **Антидот** (Таблица 9) – лекарственное средство, способное нейтрализовать действие токсиканта на организм или предупредить вызываемый им токсический эффект.

Их, в первую очередь, используют врачи клиничко-токсикологических бригад и бригад скорой медицинской помощи перед транспортировкой пострадавшего в больницу. Кроме того, антидоты используют граждане при авариях на производстве (в качестве экстренной помощи) и в очагах химического поражения в мирное и военное время. Антидотная терапия эффективна только при ранней токсикогенной фазе (т.е. в первые сутки). Токсикант в организме, как правило депонируется, то есть вступает в прочную связь со структурами клеток и тканей. Поэтому выведение их из организма в дальнейшем затруднено и требует длительной терапии. Наиболее ярким примером является лечение отравлений «металлическими ядами». В некоторых случаях токсикант может обладать множественными механизмами токсического действия на организм. Это ведет к необходимости одновременного введения антидотов с различными механизмами действия и устраняющие отдельные симптомы отравления.

Таблица 9. Наиболее распространенные антидоты и примеры их применения

Антидот	Показания к применению
Атропин	ФОСы, карбаматы
Бензилпенициллин	Аманитин
Диазепам	ФОСы
Димеркаптол	Мышьяк
Витамин В6	Отравление НДМГ (ракетное топливо)
4-диметиламинофенол	Цианид
Гидроксикоболамин	Цианид
Налоксон	Опиаты
Сукцимер	Отравление ртутью, мышьяком, свинцом, медью, кадмием
Унитиол	Отравление ртутью, никелем, свинцом

Антидоты включают в себя следующие группы: токсикотропные антидоты, токсико-кинетические антидоты, иммунные антидоты, симптоматические антидоты.

**Токсикотропные антидоты** – антидоты, влияющие на физико-химическое состояние токсиканта в желудочно-кишечном тракте и гуморальной среде организма человека. Среди них выделяют **химические антидоты** контактного действия и антидоты специфического физико-химического действия на токсические вещества. Химические антидоты, в отличие от физических, обладают довольно высокой специфичностью. Специфичность химических антидотов связана с характером протекающей химической реакции между ним и токсикантом: реакции нейтрализации, реакции с образованием нерастворимых соединений, реакции окисления и восстановления. К этим средствам относятся вещества-комплексообразователи. Они могут нейтрализовать действие «металлических ядов» путем образования с ними водорастворимых

малотоксичных комплексов, легко выводящихся почками из организма (Рис.2). Комплексообразователи делятся при этом на несколько групп: производные полиаминполикарбонновых кислот (связывают свинец, цинк, кадмий, никель, хром, медь, марганец, кобальт), дитиолы (выведение мышьяка, ртути, сурьмы, кобальта, цинка, хрома, никеля), монотиолы (N-ацетилпенициламин) и прочие. Другим примером химического антидота является хлорид кобальта, поскольку кобальт образует прочные связи с циан-ионом. Это дало основание применять кобальтовую соль ЭДТА в качестве антидота при отравлении цианидами.

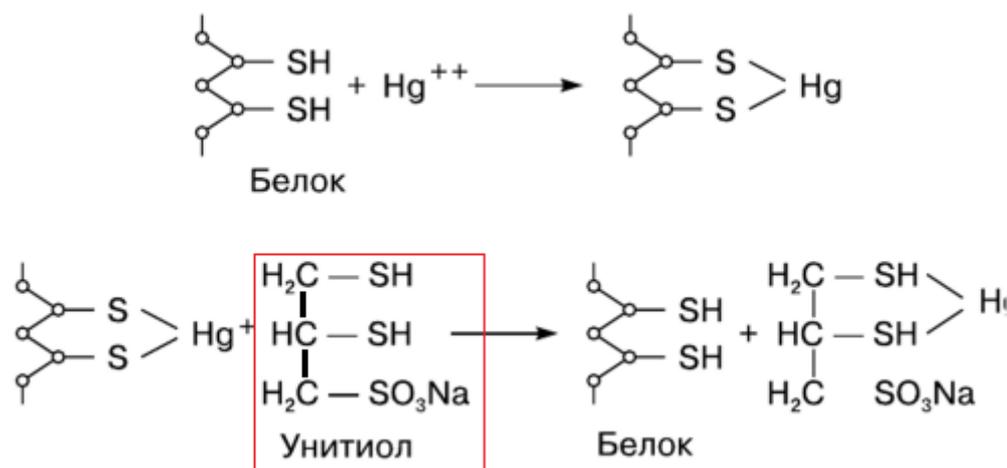


Рисунок 2 – Схема нейтрализации ртути унитиолом.

**Физические антидоты** в большинстве случаев осуществляют сорбцию токсиканта. Сорбенты (например, активированный уголь) связывают молекулы токсиканта и препятствуют его поглощению организмом. Однако при применении таких антидотов необходимо последующее выведение комплекса «адсорбент-токсикант» из организма.

**Симптоматические антидоты (фармакологические)** – антидоты, принцип действия которых основан не на действии непосредственно на токсикант, а на фармакологическом антагонизме. Они действуют на функциональные системы организма, на которые действует токсикант. Примеры таких принципов действия - антагонизм между атропином и ацетилхолином при отравлениях фосфорорганическими соединениями, хлористым калием и сердечными гликозидами.

**Иммунные антидоты** применяются при поражениях ядами змей и насекомых. Такие антидоты представлены в виде антитоксической сыворотки. Однако такие антидоты являются малоэффективными при позднем применении (через 3-4 ч). Сыворотки такие получают путем многоступенчатой иммунизации лошадей нативным ядом в присутствии неспецифического раздражителя.

**Токсико-кинетические антидоты** обеспечивают изменение метаболизма токсиканта в организме, участвуют в биохимических реакциях, не влияя при этом на физико-химическое состояние токсиканта. Некоторые из антидотов данной

группы при введении в организм существенно увеличивают количество так называемых "немых" рецепторов. К таким веществам относятся антидоты цианидов и сульфидов - азотистокислый натрий, амилнитрит, метиленовый синий и др. Принцип их действия основан на образовании метгемоглобина с последующим его взаимодействием с токсикантами (связыванием их и препятствием поступлению в ткани). Некоторые антидоты могут как разрушать связь "мишень-токсикант" и восстанавливать физиологическую активность биологически значимых молекул, так и препятствовать образованию подобной связи. К антидотам этой группы также относятся реактиваторы холинэстеразы, используемые при терапии отравлений ФОС. ФОС вызывает инактивацию холинэстераз, что приводит к накоплению в крови и тканях отравленного ацетилхолина. Отравленный ацетилхолин, в свою очередь, действуя на холинорецепторы, нарушает нормальное проведение нервных импульсов в холинэргических синапсах. Антидоты, содержащие оксимную группу в молекуле (оксимы), способны вступать в реакцию со свободными ФОС и дефосфорилировать холинэстеразу.

### Задание

Приведите примеры антидотов различных групп в зависимости от механизма их действия.

Группа антидотов	Название	Механизм действия	Примеры
1 группа	Соединения, действие которых основано на физических и физико-химических процессах		
2 группа	Соединения, обезвреживающие действие яда путем химической реакции		
3 группа	Биохимические (токсикокинетические) антидоты		
4 группа	Физиологические антагонисты		

### Задача

1. На заводе произошла внештатная ситуация – один из рабочих надышался парами ртути. Какой антидот следует дать рабочему? Каковы проявления отравления парами ртути?
2. Группа туристов отправилась в поход. При заваривании чая им в сбор попало растение с большими цветами колокольчатой формы желтоватого цвета. После чаепития у группы проявились следующие симптомы: сильная жажда, головная боль, началось головокружение, появились бред, нарушение речи и галлюцинации. При поступлении в больницу оказалось, что произошло отравление беленой. Какие антидоты следовало принять?
3. Дачница Иванова решила провести обработку садового участка дихлофосом. Ей было лень надеть защитные перчатки и маску. Вскоре у нее проявились

следующие симптомы: слюноотделение, слезотечение, расстройство мочеиспускания и дефекации, спазмы желудка, рвота. Какие антидоты следует принять?

### Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. Рвотные препараты запрещено назначать при отравлении:
  - а) бензином;
  - б) кодеином;
  - в) морфином;
  - г) синильной кислотой;
  - д) фенолом.
2. Антидотами цианидами при острых отравлениях являются:
  - а) атропин;
  - б) хромосмон;
  - в) глюкоза 40% с аскорбиновой кислотой;
  - г) цитохром С;
  - д) физостигмин.
3. Антидотами ФОС при острых отравлениях являются:
  - а) атропин;
  - б) налоксон;
  - в) изонитрозин;
  - г) фолиевая кислота;
  - д) дипироксим.
4. Перечислите естественные антидоты синильной кислоты:
  - а) конъюгация с восстановленным глутатионом, образования соединений с коллоидной серой;
  - б) взаимодействие с альдегидами (кетонами) и с коллоидной серой;
  - в) окисление с последующим гидролизом;
  - г) образование комплексных соединений с солями металлов;
  - д) ферментативное восстановление и последующая конъюгация с глутатионом.
5. Антидотный эффект тиосульфата натрия при отравлении цианидами осуществляется за счет:
  - а) выведения из цепи тканевого дыхания протонов;
  - б) выведения из дыхательной цепи цитохромов;
  - в) образования циангидридов;
  - г) за счет образования цианметгемоглобина;
  - д) нейтрализации цианидов с образованием тиоцианатов.
6. Выберите антидоты для лечения острого отравления атропиноподобными веществами:

- а) сукцимеры
  - б) обратимые ингибиторы холинэстеразы
  - в) адреноблокаторы
  - г) противорвотные препараты
  - д) антигистаминные препараты
7. Выберите антидот, действие которого основано на вмешательство в метаболизм токсиканта:
- а) метиленовый синий;
  - б) активированный уголь;
  - в) налтрексон;
  - г) этиловый спирт;
  - д) пиридоксин.
8. Выберите антидот, действие которого основано на сорбции токсиканта:
- а) налоксон;
  - б) унитиол;
  - в) метиленовый синий;
  - г) ЭДТА;
  - д) активированный уголь.
9. Антидотами при отравлении метанолом являются:
- а) унитиол;
  - б) тиосульфат натрия;
  - в) фолиевая кислота;
  - г) этиловый спирт;
  - д) хромосмон.
10. При осуществлении антидотной терапии при отравлении гидразиновым топливом необходимо ввести:
- а) витамин В6;
  - б) унитиол;
  - в) активированный уголь;
  - г) налоксон;
  - д) любой гипертензивный препарат.

### **Лабораторная работа «Нейтрализация токсического действия фенола янтарной кислотой»**

Фенол – это химическое органическое вещество, углеводород, являющееся опасным токсикантом как для человека, так и для растений. В современном мире фенол – один из наиболее распространенных и опасных загрязнителей окружающей среды, поскольку они способны менять химические и физические свойства почвы. Токсикологический эффект фенолов выражается в нарушении дыхания растений, снижении барьерных функций мембран, подавлении роста. Известно, что в высоких концентрациях фенолы тормозят ростовые процессы

растений. Однако фенол в малых дозах способен усиливать рост. Добавление янтарной кислоты, одного из основных субстратов дыхания, позволяет клеткам быстро получить энергию в результате активизации митохондриального дыхания. Поэтому проростки в большей степени способны противостоять токсическому действию высоких концентраций фенола фенола.

**Цель работы:** оценить нейтрализующее действие янтарной кислоты при контакте семян с фенолом.

**Оборудование, реактивы, материалы:** чашки Петри, цилиндры, пробирки, раствор фенола с концентрацией 5%, раствор янтарной кислоты с концентрацией 0,5%, семена растений.

**Ход работы:** Из первоначального раствора фенола методом последовательных разбавлений в 5 раз готовятся растворы с концентрацией 0,1, 0,02, 0,004, 0,0008, 0,00016, 0,000032% и воды в качестве контроля. 8 мл этих растворов добавляются в чашки Петри, содержащие по 100 семян выбранного растения. Одновременно в эти же чашки Петри добавляется раствор янтарной кислоты концентрацией 0,005 мг/мл. Чашки Петри устанавливаются в темное место, и через 7 дней производится подсчет проросших семян.

На основании полученных результатов составляется график зависимости прорастания семян от концентрации фенола, и действие на него янтарной кислоты.

## **Тема 8. Проведение токсикологического эксперимента**

Одним из основных принципов правильно спланированного опыта является корректный выбор подопытных животных для проведения токсикологического эксперимента. Выбор вида животных для эксперимента определяется рядом таких особенностей, как размеры животного и особенности их физиологии. Так, например, при исследовании токсичности химических веществ в экспериментальной токсикологии используются мыши (линейные и не линейные) и крысы. Морские свинки наиболее часто используются при изучении аллергических реакций, вызванных токсикантами.

Проведение токсикологических экспериментов регламентируется большим количеством нормативной документации, изучение которой необходимо и обязательно. Вот некоторые из них: ГОСТ Р ИСО 10993-10-99 «Исследование раздражающего и сенсибилизирующего действия»; ГОСТ Р ИСО 10993-11-99 «Исследование общетоксического действия»; ГОСТ 34553-2019 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Токсикокинетические испытания».

Особое внимание следует уделить Методическим указаниям 1.2.2520-09 «Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноматериалов», разработанные для обеспечения единой системы исследования образцов. В них отражены требования к исследуемым наноматериалам, требования к

лабораторным животным, а также требования к планированию и проведению исследований. Наиболее важными в данных методических указаниях являются подробные и понятные схемы проведения экспериментов по изучению общетоксического действия наноматериалов при различных способах введения (определение острой токсичности, отдаленных эффектов).

Перенос результатов экспериментальных исследований с животных на человека – одна из важнейших и сложнейших в профилактической токсикологии. Основная трудность заключается в различии видовых особенностей обмена веществ человека и животных. Решение видовой чувствительности возможно только при проведении эксперимента на нескольких видах при достаточном числе животных.

Проведение химико-токсикологического анализа позволяет в кратчайшие сроки подтвердить или опровергнуть наличие токсического вещества в биологических объектах как у животных, так и у человека. К биологическим объектам относятся кровь, моча, слюна, пот, рвотные массы, волосы, ногти, смывы с рук и т.д. Порошки, таблетки, остатки жидкости при этом будут относиться к небиологическим объектам и также будут исследоваться в лаборатории. Особенность такого анализа – поиск **следов** веществ, присутствующих в биологических объектах. ХТА состоит из нескольких стадий: преданалитический этап, предварительный анализ, химическое исследование (выделение вещества, качественный и количественный анализ), интерпретация результатов.

Например, при поиске барбитуратов применяются как химические и физико-химические, так и биологические методы. Для установления факта присутствия барбитуратов в объекте используют 2—3 независимых метода: химические (хромогенные реакции) тесты, иммунохимические тесты, УФ-ВИД-спектрофотометрия, ИК-Фурье спектрометрия, хроматографические методы. Используются также гибридные методы: газовая хроматография – масс-спектрометрия (ГХ-МС), газовая хроматография - ИК Фурье-спектрометрия, и т.д.

Предварительные испытания при ХТА важны в первую очередь для планирования дальнейших исследований. Предварительные испытания включают в себя определение цвета и запаха биологических и небиологических объектов, определение их рН, проведение ряда цветных реакций и иммунохроматографического анализа. Иногда требуется предварительная экстракция вещества (твердофазная, жидкостная, метод дистилляции, гидролиз) и его концентрирование.

Сам ХТА включает в себя обнаружение токсического вещества в биопробе, его выделение и идентификация (установление их природы), определение концентрации вещества и его метаболитов, интерпретация результатов.

### Задание

Дайте развернутые ответы на вопросы:

1. Классификация «летучих» токсикантов.
2. Общие и частные методы изолирования летучих токсикантов.
3. Обнаружение и количественное определение «металлических» токсикантов.
4. Химико-токсикологический анализ веществ, изолируемых экстракцией водой.

### Задача

Гражданин Иванов поступил в больницу с подозрением на отравление производным алкалоида опиума – а именно, кодеина фосфатом. Сотруднику аналитической лаборатории поступил образец биоматериала – моча. Какую методику определения и изолирования токсиканта выберет сотрудник лаборатории? Опишите выбранные методику изолирования и определения кодеина фосфата.

### Тест

Выберите один или несколько правильных ответов, используя дополнительную литературу.

1. Какие алкалоиды обнаружит в биологических жидкостях (кровь и моча) лаборант при обосновании опийной наркомании:
  - а) героин
  - б) папаверин
  - в) кодеин
  - г) морфин
  - д) этилморфин.
2. Как можно подтвердить наличие барбитуратов в пробе:
  - а) цветные реакции
  - б) фармакологические пробы
  - в) УФ спектрофотометрия
  - г) микрокристаллоскопия
  - д) иммунохимический тест
3. Какими способами проводят экстракцию токсиканта из волос:
  - а) жидкость-жидкостная экстракция;
  - б) твердофазная экстракция;
  - в) твердо-жидкостная экстракция;
  - г) экстракция в ультразвуковых полях;
  - д) сверхкритичная флюидная экстракция.
4. Какие вещества экстрагируются из кислой среды:
  - а) сердечные гликозиды;
  - б) алкалоиды мака;
  - в) алкалоиды опия;

- г) производные ксантина;
- д) барбитураты.

5. Назовите основной способ изолирования лекарственных веществ из крови:

- а) экстракция в ультразвуковых полях;
- б) жидкость-жидкостная экстракция;
- в) центрифугирование;
- г) ионизирование;
- д) ферментирование.

6. От чего зависит степень экстракции токсиканта:

- а) растворимость;
- б) липофильность;
- в) длительность экстракции;
- г) природа экстрагента;
- д) рН среды.

7. Какими методами будете определять токсикант:

Токсикант	Метод определения
1. Пестициды	а) Спектрофотометрия
2. Формальдегид	б) рН-метрия
3. Хлороформ	в) Тонкослойная хроматография
4. Бензол	г) Газовая хроматография

8. Изолирование гиromитрина из органов трупа проводят экстрагированием в:

- а) Этаноле;
- б) Воде;
- в) Метаноле;
- г) Растворе щавелевой кислоты;
- д) Ацетоне.

9. Какой метод используют для определения аматоксинов и фаллотоксинов в плазме крови:

- а) УФ-СФМ;
- б) ВЭЖХ;
- в) ТСХ;
- г) ГЖХ;
- д) ИК-Фурье спектрометрия.

10. Какие реактивы применяют для предварительных испытаний при идентификации грибных токсинов:

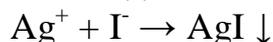
- а) Реактив Драгендорфа-Дельвиче;
- б) Хлорид железа (III);
- в) Аминоантипирин;
- г) О-Дианизидин;
- д) Реактив Марки

### **Лабораторная работа «Определение соли серебра в биологических объектах»**

К группе «металлических» ядов относятся соединения сурьмы, мышьяка и соли металлов, имеющие токсикологическое значение. Токсическое действие большинства «металлических ядов» на организм человека проявляется в их выраженном нейротоксическом действии. Среди металлических ядов очень опасным является серебро. Серебро входит в состав припоев, аккумуляторов, бытовых изделий. Также серебро широко применяется в медицине в виде коллоидных растворов.

При многолетней работе с серебром данный токсикант откладывается в соединительной ткани, стенках капилляров, в почках, костном мозге и селезенке. Накапливаясь в коже и слизистых, придает им характерную серо-зеленую и голубоватую окраску. При пероральном поступлении серебро легко проникает в эритроциты и связывается с глобулинами. Выделяется с мочой и калом.

Одним из методов выделения солей серебра – реакция с иодидом калия с образованием характерного желтого осадка:



**Цель работы:** отработать методику определения солей серебра в биологических жидкостях.

**Материалы, оборудование:** респираторы, перчатки, моча, с растворенным в ней аммиаком серебра, насыщенный раствор иодида калия, пробирки, пипетки

**Ход работы:** К 2 мл мочи, содержащей аммиак серебра, добавить 2 мл насыщенного раствора иодида калия. Аккуратно перемешать. Наблюдать появление мутного желтого осадка AgI. Зафиксировать полученный результат и написать отчет о проделанной работе.

### Ответы на тестовые задания

Тема 1									
1	2	3	4	5	6	7	8		
б, г	в, г	1 – в, г, д 2 – а, б, е, ж	а, в	а, в	г	а-в	б		
Тема 2									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
а, г	а, в	в	а, г	а	г	а, в, г	в, г	а	в
Тема 3									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
а	б-г	а, в	б	б, г	б, в	а, г	б	а-г	а
Тема 4									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
а-г	б-г	а, в, г	а	а	б-г	а-д	б, г	а, б	б
Тема 5									
1	2	3	4	5	6	7			
а	б	б, г	б	а, в, г	б	а			
Тема 6									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
в	д	д	б	б	б	а-в	а-д	а	в, д
Тема 7									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
а, г	б-г	а, в, д	б, в	д	б	г	г	в, г	а
Тема 8									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
в, г	а, в, д	а-д	а, г, д	б	а-д	1 – в, г 2 – а 3 – а, г 4 – г	в	б	а-г

Тема 3. **Ответ на задачу:** 1 - этанол, 2 - кодеина гидрофосфат, 3 – фентанила цитрат.

### Список литературы

1. Основы фитотоксикологии. Обзор растительных объектов. Элементы фитохимического анализа: учебное пособие / Е. Г. Привалова В. И. Мирович; ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра фармакогнозии и фармацевтической технологии. – Иркутск: ИГМУ, 2018. – 102 с.
2. Основные принципы лечения острых отравлений: учебное пособие для студентов / Л. Н. Минакина, Ю. В. Зобнин, О. П. Клещ [и др.]; ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра фармакологии, Кафедра госпитальной терапии. – Иркутск: ИГМУ, 2019. – 64 с.
3. Механизмы и методы оценки цитотоксичности: учеб. пособие / сост.: О. С. Целоусова, Ю. В. Вахитова, В. А. Вахитов – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 113 с.
4. Основы токсикологии: учеб.-метод. пособие для студентов специальностей 1-48 02 01 «Биотехнология», 1-48 02 02 «Технология лекарственных препаратов», 1-54 01 03 «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции», 1-57 01 01 «Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов», 1-57 01 03 «Биоэкология» / В. Н. Леонтьев, О. С. Игнатовец, Е. А. Флюрик. – Минск: БГТУ, 2014. – 148 с.
5. Лабораторное руководство по токсикологической химии, часть 1. Пособие / А.И. Жебентяев. – Витебск: ВГМУ, 2019– 146 с.
6. Токсикологическая химия (в 2 частях). Ч.2: учебное пособие/А.И.Жебентяев. - Витебск: ВГМУ, 2015 – 415с.
7. Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты. Учебное пособие/Под ред. Гелашвили Д.Б., Крылов В.Н., Романова Е.Б. - Нижний Новгород: Изд-во ННГУ, 2015. – 770 с.
8. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. Учебник / сост. Куценко С.А., Бутомо Н.В., Гребенюк А.Н. и др. - СПб.: Фолиант, 2004. – 526 с.
9. Военная токсикология и токсикология экстремальных ситуаций. Учебник/Бова А.А., Горохов С.С. - Минск: БГМУ, 2005 - 662 с.
10. Токсикологическая химия. Практикум/Плетнева Т.В – М.: Эксмо, 2005 - 512 с.
11. Токсикологическая химия. Учебник/Плетнева Т.В. - 3-е издание, исправленное и дополненное. - Серия: Медицинское образование. - Москва: Эксмо, 2008 г. - 560 с.
12. Экстремальная токсикология: учебник/под ред. Г. А. Софронова, М. В. Александрова. - 3-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 272 с.
13. Основы токсикологии: учебное пособие для студентов / А. Ю. Тарасов, С. Б. Белогоров, Д. В. Марченко; ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, Кафедра

- мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф. – Иркутск: ИГМУ, 2015. – 56 с.
14. Общая токсикология / под ред. Лойта А.О. – СПб.:ЭЛБИ-СПб, 2006. – 224 с.
  15. Токсикология полимерных материалов/под ред. В.О. Шефтеля. – К.:«Здоровье»,1988. – 217 с.
  16. Острые отравления лекарственными средствами и наркотическими веществами/сост. Е.Ю. Бонитенко, Ю.Ю. Бонитенко, Е.С. Бушуев, А.И. Головкин, Т.В. Горбачева, С.А. Куценко, С.П. Нечипоренко – СПб.:ЭЛБИ-СПб, 2010, - 440 с.
  17. Общая токсикология/Под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М.:Медицина, 2002. – 608 с.
  18. Калягин А.Н. Острые отравления [Текст]: Учебное пособие для студентов медицинских вузов, обучающихся по специальности «Медицинская биохимия». / А.Н. Калягин. – Иркутск, 2011. – 32 с.
  19. Методы детоксикации в клинической токсикологии: учеб.-метод. пособие / сост.: Р. Н. Кильдебекова, В. Т. Кайбышев, А. Л. Федотов, Р. Э. Сафаров, Л. Р. Мингазова, А. К. Низамов, Р. С. Фаршатов. – Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 88 с.
  20. Военная и экстремальная медицина. Часть II. / И.И. Прохоров, В.М. Ивашин, В.А. Новоселецкий. – Гродно: УО «ГрГМУ», 2011. – 314 с
  21. Основы токсикологии/Куценко С. А. - Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия им. С. – 2002.
  22. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. В трех томах. Том 3. Неорганические и элементоорганические соединения/Под ред. Н.В. Лазарев, И.Д. Гадаскина. – Л.:Химия, 1977 – 608с.
  23. Вредные химические вещества. Том 1: Элементы I-VIII групп периодической системы и их неорганические соединения. Радиоактивные вещества/под ред. В.В. Уйба и др. – СПб.: ЛА «Профессионал», 2015. – 1336 с.

Попова Елена Викторовна

## **Практикум по основам токсикологии материалов**

**Учебно-методическое пособие**

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

**Редакционно-издательский отдел**  
**Университета ИТМО**  
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, литер А