

Βιοχημική Τοξικολογία

Μέθοδοι στην τοξικολογία

Δημήτρης Κουρέτας

Καθηγητής

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας

Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών



Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα

- Οι μελέτες για την οξεία τοξικότητα σε πειραματόζωα έχουν σκοπό να προσδιορίσουν τις επιπτώσεις στον άνθρωπο της έκθεσης σε μία και υψηλή δόση ξενοβιοτικού, όπως συμβαίνει σε βιομηχανικά ατυχήματα ή σε περίπτωση υπερδοσολογίας ναρκωτικών.

Επαναλαμβανόμενη δόση

- Με αυτό τον τρόπο μελετάται η χρόνια τοξικότητα ενός ξενοβιοτικού και προσδιορίζονται οι επιπτώσεις στον άνθρωπο της συχνής έκθεσής του σε χημικά από το σπίτι ή τον εργασιακό χώρο.

Τοξικολογικές μελέτες

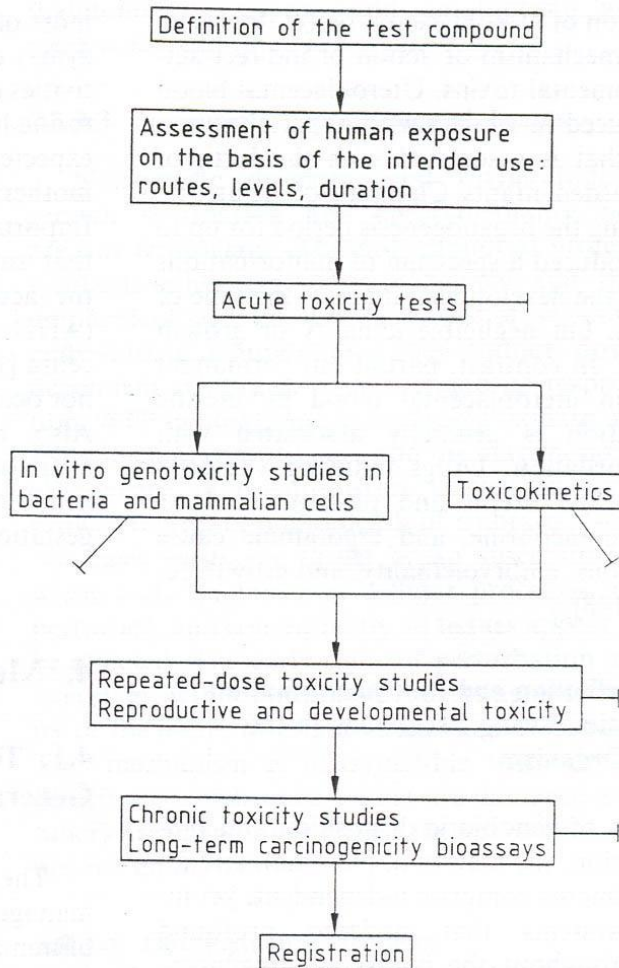
Διατήρηση πειραματόζωων

- Η διατήρηση συγκεκριμένων συνθηκών για τη χρήση πειραματόζωων παίζει σημαντικό ρόλο στο σχεδιασμό πειραμάτων τοξικότητας και την επεξήγηση πειραματικών δεδομένων.
- Τα ζώα πρέπει να διατηρούνται σε συγκεκριμένες συνθήκες:

θερμοκρασία $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, επαρκή εξαερισμό, υγρασία 30-70%, εναλλαγή 12h φως και 12h σκοτάδι, ποιότητα τροφής και νερού.

- Μόνο υγιή ένηβα ζώα πρέπει να χρησιμοποιούνται και θα πρέπει να εγκληματιστούν στις συνθήκες του πειράματος πριν αυτό ξεκινήσει.

Τοξικολογικές μελέτες



Evaluation of the toxicity profile of a new chemical compound on the basis of a decision point approach

At every step of toxicity testing, further development may be interrupted if, on the basis of data collected up to that point, the human risk is considered unacceptable.

Αλληλουχία γεγονότων
εκτίμησης της τοξικότητας ενός
νέου ξеноβιοτικού

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας στη στοματική οδό

- Τα τεστ οξείας τοξικότητας έχουν σκοπό:
 - i) να εκτιμήσουν τη φυσική τοξικότητα του εξεταζόμενου ξενοβιοτικού
 - ii) να εξετάσουν όργανα στα οποία το ξενοβιοτικό προκαλεί τοξικότητα
 - iii) να παράσχουν πληροφορίες σχετικές με τη δόση και τη θεραπεία απέναντι στο ξενοβιοτικό
 - iv) να παράσχουν πληροφορίες σε σχέση με το ρίσκο πρόκλησης βλαβών στον άνθρωπο μετά από μία υψηλή δόση

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

LD₅₀ test

- Αυξανόμενες δόσεις ενός ξενοβιοτικού χορηγούνται σε ομάδες ζώων και με τη χρήση μαθηματικών μοντέλων υπολογίζεται η συγκέντρωση που προκαλεί το θάνατο του 50% των πειραματόζωων.
- Χρήση τουλάχιστον τριών ομάδων ζώων που θα τους χορηγηθούν διαφορετικές δόσεις.
- Η κάθε ομάδα θα πρέπει να αποτελείται από πέντε αρσενικά και πέντε θηλυκά ζώα. Επίσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τρεις ομάδες από ζώα του ενός φύλου που θα τους χορηγηθούν διαφορετικές δόσεις και μία ομάδα ζώων του άλλου φύλου που θα τους χορηγηθεί μία μόνο δόση.
- Ωστόσο, το μόνο κριτήριο τοξικότητας που εφαρμόζεται είναι ο θάνατος ενώ απαιτείται ο θάνατος μεγάλου αριθμού πειραματόζωων για να υπάρξουν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Πολλοί εξωτερικοί παράγοντες συμβάλλουν στον υπολογισμό της LD₅₀, ενώ δεν υπάρχει δυνατότητα λήψης πληροφορίας για χρόνια τοξικότητα.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Fixed-dose method

- Το ποσό της δόσης που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση τοξικότητας αλλά όχι θανάτου οδηγεί στην ταξινόμηση των ξενοβιοτικών ανάλογα με την τοξική τους δράση.
- Απαιτούνται τουλάχιστον δέκα ζώα, μισά από κάθε φύλο. Η αρχική δόση υπολογίζεται σύμφωνα με την ικανότητά της να προκαλεί τοξικές επιδράσεις αλλά όχι θάνατο.
- Αν δε ληφθούν σαφή σημάδια τοξικότητας στις πρώτες δύο εβδομάδες εφαρμογής της δόσης, η δόση αυξάνεται. Τα σημάδια της τοξικότητας σε ζώα κλεισμένα σε κλουβί συνίστανται στον ερεθισμό της επιδερμίδας, της γούνας, των ματιών, του αναπνευστικού τους συστήματος, της πίεσης και της συμπεριφοράς τους. Δίνει πληροφορίες σχετικά με τον τύπο, τη διάρκεια και τις συνέπειες της τοξικής επίδρασης ενός ξενοβιοτικού ενώ απαιτεί μικρότερο αριθμό ζώων.

Τοξικολογικές μελέτες

Fixed-dose method

Classification of toxicity of a xenobiotic with the fixed-dose method

Dose (oral), mg/kg	Results	Classification
5	less than 90% survival	very toxic
	90% or more survival but evident toxicity	toxic
	90% or more survival, no evident toxicity	retest at 50 mg/kg
50	less than 90% survival	toxic, retest at 5 mg/kg
	90% or more survival, but evident toxicity	harmful
	90% or more survival, no evident toxicity	retest at 500 mg/kg
500	less than 90% survival or evident toxicity and no death	harmful, retest at 50 mg/kg
	no evident toxicity	retest at 2000 mg/kg
2000	less than 90% survival	harmful
	90% or more survival, with or without evident toxicity	unclassified, does not represent a significant acute toxic risk if swallowed, no further testing necessary

Ταξινόμηση των τοξικών επιδράσεων ξενοβιοτικών ανάλογα με τη δόση

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας στην επιδερμίδα

- Ο έλεγχος για την τοξικότητα ενός ξενοβιοτικού στο δέρμα γίνεται συνήθως σε κουνέλια.
- Το ξενοβιοτικό εφαρμόζεται στη ράχη. Το τρίχωμα του ζώου πρέπει να απομακρυνθεί. Πρέπει να καλυφθεί το 10% της ράχης του ζώου. Τα στερεά ξενοβιοτικά διαλύονται σε φυσιολογικό ορό ή άλλο, κατάλληλο διαλύτη.
- Τρεις τύποι εφαρμογής του χημικού χρησιμοποιούνται: unocclusive, semiocclusive, occlusive.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας στην επιδερμίδα

Occlusive: το σημείο του δέρματος που έχει χορηγηθεί το ξενοβιοτικό καλύπτεται με ένα ύφασμα μη περατό.

Semioclusive: το σημείο του δέρματος που έχει χορηγηθεί το ξενοβιοτικό καλύπτεται με ένα πορώδες υλικό.

Unocclusive: το ξενοβιοτικό απλώνεται σε σημείο του σώματος που το ζώο δεν το φτάνει με τη γλώσσα του και δεν καλύπτεται με τίποτα.

- Η διάρκεια της έκθεσης είναι 4-24 h. Αν δεν παρατηρηθούν σημάδια τοξικότητας μετά από δόση 2g/kg b.w. η εφαρμογή μεγαλύτερων δόσεων δεν καθίσταται απαραίτητη.
- Παρόλα αυτά, υπάρχουν διαφορές στην ανατομία του δέρματος μεταξύ ανθρώπου και πειραματόζωων. Το δέρμα του ανθρώπου είναι πιο συγγενές με το δέρμα του χοίρου και του πιθήκου και λιγότερο με του επίμουσ και του κουνελιού. Το πείραμα μπορεί να γίνει και *in vitro* σε ανθρώπινο δείγμα.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας μέσω της αναπνοής

- Μόρια με διάμετρο $> 100\mu\text{m}$ είναι σχεδόν απίθανο να εισπνευστούν. Μόρια με διάμετρο $10-50\mu\text{m}$ μένουν στη μύτη και το ανώτερο τμήμα του αναπνευστικού σωλήνα ενώ μόρια με διάμετρο $< 7\mu\text{m}$ μπορούν να φτάσουν στον ανθρώπινο πνεύμονα.
- Πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ανατομικές διαφορές του αναπνευστικού συστήματος του ανθρώπου σε σχέση με τα πειραματόζωα. Σε αντίθεση με τον άνθρωπο, ο επίμυς αναπνέει αποκλειστικά από τη μύτη και έτσι η ανώτερη τιμή της διαμέτρου των μορίων που μπορούν να φτάσουν στον πνεύμονα είναι $3-30\mu\text{m}$.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας μέσω της αναπνοής

- Η διάρκεια της έκθεσης είναι συνήθως 4-6h μέσα σε ειδικούς θαλάμους.
- Πολλά αέρια με μεγάλη διαλυτότητα στο νερό, όπως η αμμωνία και η φορμαλδεΰδη απορροφούνται αμέσως από το επιθήλιο του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος.
- Αέρια με μικρή υδατοδιαλυτότητα, όπως το διοξείδιο του αζώτου, το φωσγένιο και το όζον φτάνουν μέχρι το κατώτερο τμήμα του αναπνευστικού συστήματος ακόμα και σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας μέσω της αναπνοής

Μπορεί να γίνει σε δυναμικά ή στατικά συστήματα.

- *Δυναμικά συστήματα: ο αέρας ανανεώνεται συνεχώς για να εξασφαλιστούν οι ιδανικές συγκεντρώσεις του ξενοβιοτικού στην αέρια φάση.*
- *Τα υγρά ξενοβιοτικά προστίθενται σε ένα ρεύμα αέρα και μετά όλα τα ξενοβιοτικά αναμιγνύονται με τον αέρα και εισέρχονται στο θάλαμο. Το μοντέλο αυτό είναι πολύπλοκο και απαιτεί μεγάλες ποσότητες του προς μελέτη ξενοβιοτικού αλλά και προσοχή στη μίξη του με τον αέρα.*
- *Η συγκέντρωση του ξενοβιοτικού μένει πρακτικά σταθερή.*

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Έλεγχος οξείας τοξικότητας μέσω της αναπνοής

- Στατικά συστήματα: είναι κλειστά και το ξενοβιοτικό εισέρχεται στον αέρα του θαλάμου σε συγκεκριμένη συγκέντρωση.
- Η συγκέντρωση του ξενοβιοτικού μειώνεται με την πάροδο του χρόνου λόγω της απορρόφησης και του μεταβολισμού του από το ζώο.
- Το διοξείδιο του άνθρακα που προέρχεται από την εκπνοή του ζώου κρατείται και η συγκέντρωση του οξυγόνου του αέρα ρυθμίζεται αυτόματα.
- Δείγματα του αέρα μπορούν να αναλυθούν αυτόματα με αέρια χρωματογραφία για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ξενοβιοτικού στη μονάδα του χρόνου.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Μελέτες της τοξικότητας της επαναλαμβανόμενης χορήγησης δόσης

- Οι μελέτες της τοξικότητας με την επαναλαμβανόμενη χορήγηση δόσης εξετάζουν επιδράσεις προερχόμενες από τη συσσώρευση ενός ξενοβιοτικού και δίνουν πληροφορίες για την τοξικότητα μετά από διαρκή χορήγηση.

Οφθαλμική τοξικότητα-τεστ ερεθισμού των ματιών (σύμφωνα με τον Draize)

- Το ξενοβιοτικό ενύεται στο ένα μάτι του κουνελιού ενώ το άλλο χρησιμεύει ως μάτι ελέγχου (control). Τα μάτια εξετάζονται περιοδικά συνήθως μετά από 1, 24, 48, 72 h και 7 d) και τα αποτελέσματα καταγράφονται σε μία ειδική φόρμα με βαθμούς.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Άλλα τεστ

- Έχουν προταθεί διάφορα in vivo τεστ για τον έλεγχο του ερεθισμού των ματιών με σκοπό τις καλύτερες πειραματικές συνθήκες για τα πειραματόζωα.
- Ανάμεσα στα διάφορα συστήματα μελέτης, το σύστημα της χοριοαλλαντοϊκής μεμβράνης του αυγού της κότας είναι το καλύτερα μελετημένο.
- Μετά από 10 μέρες επώασης χορηγούνται ξενοβιοτικά και καταγράφονται τα αποτελέσματά τους, όπως η υπεραιμία και η αιμοραγία μετά από 0.5, 2 και 5 min. Τα αποτελέσματα σχετίζονται ακολούθως με το τεστ του Draize.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Άλλα τεστ

- Χρησιμοποιούνται τεστ απομονωμένου κερατοειδούς αλλά και καλλιέργειες επιθηλιακών κυττάρων κερατοειδούς και ινοβλαστών του πνεύμονα.
- Έχει χρησιμοποιηθεί το σύστημα Eutex για την πρόβλεψη οφθαλμικής τοξικότητας in vivo μέσω μακρομοριακής προσέγγισης του κερατοειδούς. Ο κερατοειδής είναι διαφανής λόγω της μικρής διαμέτρου των ινιδίων κολλαγόνου. Αλλαγή σε αυτό το σχηματισμό από ξενοβιοτικά προκαλεί τη μετατροπή του κερατοειδούς σε σκοτεινό και αδιαφανή ιστό.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Τεστ ευαισθησίας

- Χημικά που προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις υπάρχουν στο ανθρώπινο περιβάλλον και γι' αυτό οι αλλεργικές αντιδράσεις του δέρματος είναι ένα συχνό προς μελέτη πρόβλημα.
- Η δερματίτιδα είναι μία πολύ κοινή ασθένεια που μπορεί να αντιμετωπιστεί αν η έκθεση στο ξενοβιοτικό πάψει. Η αλλεργική δερματίτιδα είναι αποτέλεσμα δράσης του ανοσοποιητικού.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Τεστ ευαισθησίας

- Η περίοδος της πρόκλησης (*induction period*) ανάμεσα στην επαφή του δέρματος με το ξενοβιοτικό και την πρόκληση δερματικής ευαισθησίας κυμαίνεται από δύο μέρες για ισχυρά ξενοβιοτικά μέχρι μερικά χρόνια για άλλα λιγότερο ισχυρά. Για τα περισσότερα χημικά η περίοδος αυτή διαρκεί από 10-21 μέρες.
- Ο χρόνος μεταξύ επανέκθεσης στο ξενοβιοτικό και εμφάνισης των κλινικών συμπτωμάτων είναι συνήθως 12-48 h και η περίοδος αυτή ονομάζεται *challenge phase*.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Τεστ ευαισθησίας

- Διάφορα διφασικά τεστ έχουν υιοθετηθεί και όλα χρησιμοποιούν το ινδικό χοιρίδιο ως το είδος προς μελέτη.
- Πρώτη φάση: το χημικό χορηγείται στην ξυρισμένη περιοχή επιδερμικά αρκετές φορές σε μια περίοδο 2 ή 4 εβδομάδων. Τα FCA (Freund's Complete Adjuvants; A mixture of heat-killed *Mycobacterium tuberculosis*, paraffin oil and mannide monooleate) χρησιμοποιούνται για να επάγουν την ανοσολογική αντίδραση.
- Δεύτερη φάση: Κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης χρησιμοποιείται μία μη ερεθιστική συγκέντρωση του χημικού, η οποία αυξάνεται στη δεύτερη φάση προκαλώντας ερεθισμό. Η ευαισθησία αξιολογείται με την εξέταση της αντίδρασης της επιδερμίδας (οίδημα).

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Guinea pig maximization test

- Στην πρώτη φάση χορηγούνται ταυτόχρονα ενέσεις με το FCA μόνο του, το ξενοβιοτικό που μελετάται διαλυμένο σε φυσιολογικό ορό και το ξενοβιοτικό διαλυμένο σε FCA σε περιοχές που βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους.
- Κατά τη δεύτερη φάση χορηγείται το χημικό για 24 h δύο βδομάδες μετά την πρώτη φάση. Επτά μέρες μετά χορηγείται το ξενοβιοτικό σε ένα χάρτινο φίλτρο που διατηρείται στο σημείο έκθεσης για 48 h.
- Είναι τεστ εξαιρετικά ευαίσθητο.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Mouse ear swelling test

- Τα FCA και η τοξική δόση του ξενοβιοτικού χορηγούνται στο αριστερό αυτί του ποντικιού ενώ το δεξί έχει το ρόλο control.
- Το συγκεκριμένο τεστ είναι πιο φτηνό από το προηγούμενο και έχει τουλάχιστον την ίδια ευαισθησία. Ωστόσο, δεν έχει ακόμα υιοθετηθεί επίσημα.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Φωτοτοξικότητα και τεστ φωτοευαισθησίας

- Το βιολογικά ενεργό τμήμα του φάσματος του φωτός είναι το υπεριώδες (UV 220-400 nm) και το ορατό (VIS 400-760 nm). Το υπεριώδες διαιρείται περαιτέρω σε UVA, UVB & UVC.
- Η κύρια πηγή πρόκλησης τοξικών επιδράσεων στο δέρμα είναι το UVB και το UVA σε ορισμένες περιπτώσεις.
- Τα ξενοβιοτικά που βρίσκονται στο δέρμα μπορούν να ενεργοποιηθούν από το UVB και να προκαλέσουν φωτοτοξικότητα και φωτοευαισθησία (φωτοαλλεργία). Η φωτοαλλεργία είναι παρόμοια με την αλλεργική δερματίτιδα μόνο που το ξενοβιοτικό πρέπει να αντιδράσει με το φως για να ενεργοποιηθεί.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Φωτοτοξικότητα και τεστ φωτοευαισθησίας

- Πολλές φωτοτοξικές αντιδράσεις μπορεί να προκληθούν από το σχηματισμό ελευθέρων ριζών και λιπιδική υπεροξείδωση ή τοπική φλεγμονή.
- Οι φωτοαλλεργικές επιδράσεις ενός ξενοβιοτικού μελετώνται με τη χορήγηση του ξενοβιοτικού στο δέρμα ινδικών χοιριδίων. Η περιοχή της χορήγησης εκτίθεται σε υπεριώδες φως μετά από κάθε χορήγηση.
- Επτά μέρες μετά την πρώτη φάση, η challenge phase έγκειται στη χορήγηση χαμηλής δόσης του χημικού μαζί με υπεριώδη ακτινοβολία. Οι φωτοτοξικές αντιδράσεις παρατηρούνται μετά από την ταυτόχρονη χορήγηση του ξενοβιοτικού μαζί με υπεριώδη ακτινοβολία στην πρώτη φάση.
- Για τη φωτοτοξικότητα εκτός από ινδικά χοιρίδια χρησιμοποιούνται κουνέλια και ποντίκια.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Τεστ τοξικότητας κατά την αναπαραγωγή και την εξέλιξη

Περιλαμβάνει:

- Τη μελέτη της δομής και της λειτουργίας του αρσενικού ή θηλυκού αναπαραγωγικού συστήματος (γονιμότητα).
- Τη μελέτη κατά την ανάπτυξη του νέου οργανισμού (εμβρυοτοξικότητα και τερατογένεση)
- Την ανάπτυξη του οργανισμού κατά την εμβρυική και μετεμβρυική περίοδο.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Γονιμότητα και μελέτη του αναπαραγωγικού συστήματος

- Τα πειράματα γίνονται σε επίμυες (20 ζώα κάθε φύλου για κάθε δόση) με τρεις δόσεις του εξεταζόμενου ξενοβιοτικού, που χορηγείται μέσω της τροφής. Από τη χορήγηση δεν πρέπει να προκληθεί τοξικότητα στο μητρικό οργανισμό.
- Τα αρσενικά λαμβάνουν το ξενοβιοτικό 60-80 μέρες πριν από το ζευγάρισμα ενώ τα θηλυκά το λαμβάνουν 14 μέρες για να καλυφθούν τρεις έμμηνοι κύκλοι.
- Η χορήγηση συνεχίζεται και κατά την περίοδο του ζευγαρώματος ενώ στο θηλυκό συνεχίζεται και κατά την κυοφορία.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Γονιμότητα και μελέτη του αναπαραγωγικού συστήματος

- Τα μισά θηλυκά θανατώνονται αμέσως πριν τον τοκετό και ο αριθμός των εμβρύων που πέθαναν ή που είχαν ανωμαλίες καταγράφεται.
- Στα άλλα μισά θηλυκά η χορήγηση συνεχίζεται μέχρι και 21 μέρες μετά τον τοκετό.
- Τα νεαρά ζώα της πρώτης γενιάς λαμβάνουν το ξενοβιοτικό μέχρι να ωριμάσουν σεξουαλικά εισερχόμενα στη γόνιμη περίοδο.
- Η ιστολογική μελέτη της μήτρας και η ανάλυση του σπέρματος των γονικών ατόμων χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό βλαβών στο αναπαραγωγικό τους σύστημα.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Εμβρυοτοξικότητα και τερατογένεση

- Μελετώνται οι επιδράσεις του ξενοβιοτικού κατά την περίοδο της οργανογένεσης.
- Τα ξενοβιοτικά που επιδρούν σε αυτή την ευαίσθητη περίοδο της ανάπτυξης προκαλούν συνήθως μη αναστρέψιμες ανωμαλίες.
- Τα πειράματα γίνονται σε δύο είδη, επίμυες (20 για κάθε δόση) και κουνέλια (10 για κάθε δόση). Τις περισσότερες περιπτώσεις χρειάζονται να μελετηθούν δύο δόσεις και μία ομάδα control.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Εμβρυοτοξικότητα και τερατογένεση

- Τα κυοφορούντα ζώα μελετώνται κατά την περίοδο της οργανογένεσης, δηλαδή τις μέρες 6-15 στους επίμυες και 6-18 στα κουνέλια.
- Τα έμβρυα λαμβάνονται με επέμβαση καισαρικής τομής μία ημέρα πριν την προγραμματισμένη ημέρα της γέννησης, δηλαδή τη μέρα 21 για τους επίμυες και τη μέρα 31 για τα κουνέλια.
- Ο κύριος λόγος που αποφεύγεται ο φυσιολογικός τοκετός είναι για να αποφευχθούν φαινόμενα κανιβαλισμού στα νεκρά ή ανώμαλα έμβρυα, κάτι που παρατηρείται σε επίμυες και κουνέλια.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Εμβρυική και μετεμβρυική τοξικότητα

- Η χορήγηση τριών διαφορετικών δόσεων στους κυοφορούντες επίμυες ξεκινάει τη μέρα 16 της κύησης και συνεχίζεται μέχρι τη γέννα και τη γαλουχία, συνήθως τη μέρα 21 μετά τη γέννηση.
- Χρησιμοποιούνται υψηλές δόσεις του ξενοβιοτικού. Μελετώνται επιδράσεις στο βάρος του εμβρύου και τη θνησιμότητα καθώς και την ανάπτυξή του.
- Τα αποτελέσματα στους επίμυες προσομοιάζονται με αυτά στον άνθρωπο αλλά με πολύ προσοχή καθώς ο οργανισμός των νεογέννητων επίμυων είναι λιγότερο ώριμος κατά τη γέννησή του σε σχέση με τον άνθρωπο.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Μελέτες στις επόμενες γενιές απογόνων

- Οι μελέτες αυτές βοηθούν στην κατανόηση των επιδράσεων των ξενοβιοτικών που συσσωρεύονται στη δεύτερη και τρίτη γενιά απογόνων μετά από συνεχή χορήγηση.
- Χρησιμοποιούνται τρεις διαφορετικές δόσεις του ξενοβιοτικού σε ομάδες των 25 θηλυκών και 25 αρσενικών επίμυων τις μέρες 30 και 40. Οι επίμυες αυτοί αναφέρονται ως η F_0 γενιά και τους χορηγείται το ξενοβιοτικό κατά την περίοδο της αναπαραγωγής, που γίνεται περίπου 140 μέρες μετά τη γέννηση, ενώ στα θηλυκά κατά την κύηση και το γαλακτισμό.
- Τα άτομα της F_1 γενιάς έχουν εκτεθεί στο ξενοβιοτικό στη μήτρα μέσω του γάλατος και μέσω της τροφής. Ακολούθως, εξετάζονται τα μικρά που γεννιούνται από την F_1 γενιά. Με αυτά τα στοιχεία υπολογίζονται οι ακόλουθοι δείκτες.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Μελέτες στις επόμενες γενιές απογόνων

Δείκτης γονιμότητας (%) = αριθμός ζώων που κυοφορούν/αριθμός ατόμων που ζευγάρωσαν x 100

Δείκτης γεννήσεων (%) = αριθμός γεννήσεων που οδηγούν σε ζωντανούς απογόνους/αριθμός γεννήσεων x 100

Δείκτης βιωσιμότητας (%) = αριθμός ζωντανών ζώων τη μέρα 4 μετά τη γέννηση/αριθμός νεογέννητων x 100

Δείκτης γαλακτισμού (%) = αριθμός ζωντανών ζώων τη μέρα 28 μετά τη γέννηση/αριθμός ζωντανών ζώων τη μέρα 4 μετά τη γέννηση x 100

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Ρόλος της μητρικής τοξικότητας στην τερατογένεση

- Αν ένας παράγοντας με εκλεκτική αναπτυξιακή τοξικότητα χορηγείται κατά την περίοδο της οργανογένεσης (μέρες 6-15 στον επίμυ), η αναγνώριση των ευαίσθητων οργάνων-στόχων είναι δύσκολη καθώς οι επιδράσεις μπορεί να καλυφθούν από την εμβρυοθνησιμότητα.
- Η αναπτυξιακή τοξικότητα μέσω της απώλειας σωματικού βάρους του εμβρύου είναι γενικά αποδεκτό ότι συμβαίνει σε δόσεις τοξικές για το μητρικό οργανισμό.
- Δόσεις που προκαλούν μητρική τοξικότητα, όπως δείχνει η απώλεια βάρους του μητρικού οργανισμού συνήθως προκαλούν ελάττωση του βάρους του εμβρύου και πιο σπάνια θάνατο.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

Εκτίμηση του ανθρώπινου κινδύνου απέναντι σε ξενοβιοτικά βασισμένα σε στοιχεία από πειράματα σε ζώα

- Σε αντίθεση με την υψηλή ευαισθησία (ικανότητα ανίχνευσης μιας θετικής επίδρασης ενός ξενοβιοτικού), τα πειραματόζωα έχουν χαμηλή ακρίβεια (ικανότητα ανίχνευσης μιας αρνητικής επίδρασης ενός ξενοβιοτικού) για την πρόβλεψη της ανθρώπινης τερατογένεσης.
- Σε 165 ξενοβιοτικά που εξετάστηκαν και δεν προκάλεσαν τερατογένεση στον άνθρωπο, τα 65 (41%) ήταν θετικά σε περισσότερα από ένα είδη ζώων.
- Ανθρώπινες μελέτες εκτιμούν την πρόκληση τοξικών επιδράσεων μετά τη γέννηση κι έτσι μπορεί να μην εκτιμηθούν σωστά οι ιδιότητες του προς μελέτη ξενοβιοτικού.

Τοξικολογικές μελέτες

Οξεία τοξικότητα.

In vitro τεστ για την εκτίμηση της αναπτυξιακής τοξικότητας

- Λόγω της πολυπλοκότητας του μηχανισμού ανάπτυξης ενός οργανισμού κανένα *in vitro* τεστ δεν είναι τόσο αξιόπιστο ώστε να αντικαταστήσει τις μελέτες σε ζώα.
- Υπάρχουν μαθηματικά μοντέλα που συσχετίζουν το σχηματισμό των οργάνων με την τερατογένεση και προβλέπουν ενδεχόμενη εμβρυοτοξικότητα ξενοβιοτικών.