

Význam toxikologického a ekotoxikologického hodnocení některých xenobiotik dostávajících se do životního prostředí

Přítomnost toxických, případně ekotoxických xenobiotik je základním kritériem rizika ohrožení ekosystémů. Tyto látky mohou výrazně ovlivnit kvalitu životního prostředí. Základní vyšetření chemických látek dostávajících se do životního prostředí, ať již cíleně, nebo spíše nedopatřením (odpad), je nejen náročné, ale také nákladné. Metodologie toxikologických a ekotoxikologických vyšetření je v současné době (na základě různých mezinárodních dohod) na takové úrovni, že získané výsledky se mohou navzájem přebírat a použít při provádění protipatření.

Význam průmyslové toxikologie a ekotoxikologie je v současném světě nedozírný. Znalost biologické nezávadnosti jednak finálních výrobků chemického průmyslu, ale také použitých surovin, případně jednotlivých meziproductů, až po nežádoucí odpad, má poměrně značný a prakticky nezastupitelný význam při zmapování rizika na určitém teritoriu, případně zdravotního ohrožení lidské populace či životního prostředí.

Důležitá je přítom znalost objemu výroby a způsobu aplikace chemické látky i případného kontaktu s ní - od pracovníků ve výrobě, až po její nejširší použití. Z tohoto aspektu se největší pozornost obvykle věnuje např. chemickým látkám používaným v zemědělství. V současné době je neméně zajímavý odpad chemického průmyslu, a to bez ohledu na jeho formu (exhalace, odpadní vody, tuhé skládky apod.)

Základem přístupu k problému je stanovit stupeň rizika škodlivosti chemické látky. Na to je schopna nejlépe odpovídat experimentální toxikologie a ekotoxikologie. Zhruba zásadním kritériem je charakter toxických účinků, které zjednodušeně možno dělit na akutní a pozdní, resp. chronické.

Základním kritériem akutní toxicity je hodnota LD₅₀, případně LC₅₀. To je tzv. dávka letální - smrtelná, nebo smrtící, případně taková koncentrace zkoušené látky (v tomto případě xenobiotika), kdy 50 % pokusných laboratorních zvířat uhynie a 50 % přežije. Hodnota LD₅₀ se vyjadřuje v g nebo mg na 1 kg živé hmotnosti zvířete a v případě LC₅₀ je to g nebo mg.m⁻³, nebo ppm. V druhém případě jde o inhalace a průnik toxické látky přes respirační trakt. Inhalační testy se provádí ve vhodných komorách a doba expozice je 4 hodiny. V případě LD₅₀ je vstup toxické látky možný různými způsoby, nejčastěji však přes zažívací trakt (perorálně) a přes pokožku (perkutánně). Podle naměřených hodnot lze stanovit látku zhruba jako jedovatou, případně neškodnou.

Řada autorů ještě přesněji specifikuje tuto toxicitu do stupnice (tab. 1).

Tab. 1. Klasifikace látek podle akutní toxicity

DL ₅₀ krysa p.o.	Charakteristika	Při požití usmrtí člověka	Porovnávací látka (DL ₅₀)
< 5 mg.kg ⁻¹	krajně jedovatá	špetka	TEPP (1,2 mg.kg ⁻¹) fluorocetan sodný (1,5 mg.kg ⁻¹)
5 až 50 mg.kg ⁻¹	velmi jedovatá	káвовá lžička	kyanid draselný (13 mg.kg ⁻¹) chlorid rtuťnatý (37 mg.kg ⁻¹)
50 až 500 mg.kg ⁻¹	jedovatá	polévková lžíce	fluorid sodný (200 mg.kg ⁻¹) DDT (400 mg.kg ⁻¹)
0,5 až 5 g.kg ⁻¹	málo jedovatá	šálek	amylalkohol (1g.kg ⁻¹) ethylenglykol (6,1 g.kg ⁻¹)
5 až 15 g.kg ⁻¹	prakticky nejedovatá	půllitr	aceton (9,8 g.kg ⁻¹) ethylalkohol (14 g.kg ⁻¹)
> 15 g.kg ⁻¹	prakticky neškodná	litry nebo kila	glycerin (28 g.kg ⁻¹)

(Marhold: Přehled průmyslové toxikologie, 1964)

Neméně závažným testem na akutní působení zkoušené látky je zjištění jejího dráždivého účinku, a to jak na kůži, tak na sliznici (oko). Zatímco na stanovení akutní toxicity se v převážné míře používají laboratorní potkani (u nás nejčastěji kmen Wistar), testy na dráždivost se provádí na albinotickém druhu králíka. Vedle potkana se někdy používá také laboratorní myš, případně syrský křeček a pod. Pro šířeji koncipované studie se testy provádí vždy alespoň na třech druzích zvířat, z nichž jedno by neměl být hlodavec (používá se králik, ve farmakologicko-toxikologických studiích někdy pes). Vedle těchto testů na akutní působení provádí se hodnocení chemické látky na senzibilizaci (alergii) na morčatech, na schopnost biokumulace v organismu (pomocí toxikokinetické studie), studium biotransformace xenobiotika apod.

Stejně tak důležité jako akutní (ne-li ještě více) jsou účinky po opakovaném krátkodobém a dlouhodobém působení na organismus, které lze stanovit toxikologickými testy, reprezentovanými 28-denní expozicí (subakutní toxicita), 3-měsíční (subchronická toxicita) a posléze testy trvající 1-2 roky (chronické). Nejzávažnějšími negativními biologickými účinky jsou mutagenita, karcinogenita a teratogenita. V prvním případě se jedná o ohrožení následných generací, ve druhém o ohrožení jedince možnostmi onemocnění maligními nádory, případně leukemii a posléze ohrožení plodu v těle gravidních matek. Testy na mutagenitu se zpravidla provádějí na mikrobiální úrovni (test na genové mutace prokaryotických buněk). Poněkud složitější je to s otázkou karcinogenity. Protože většina chemických karcinogenů je ve svém působení spjata s metabolickým mechanismem, je třeba znát celou řadu okolností, které určují osud cizorodé látky v živém organismu. Pro odhad karcinogenních účinků jsou v současné době rozhodující dlouhodobé pokusy na laboratorních zvířatech s následným histopatologickým sledováním případného maligního onemocnění, nebo epidemiologické studie. Epidemiologicky je možno zjistit podle naší nomenklatury prokázany karcinogen, jinak se jedná o podezřelý (potencionální) karcinogen.

Do oblasti tzv. genetické toxikologie spadá teratogenita. Její zařazení je poněkud komplikovanější, v principu se však jedná o vznik morfologických a funkčních odchylek organismu v průběhu jeho embryonálního vývoje. Jednou z dalších toxikologických zkoušek je test na ovlivnění fertility (reprodukce).

Neméně závažné jsou testy na tzv. neurotoxicitu, které se donedávna modelovaly převážně pouze stupněm inhibice cholinesterázy při hodnocení chemických sloučenin.

Dlouhodobé testy neinformují pouze o karcinogenitě, ale také o dalších, tzv. pozdních účincích. Proto se při pitvě hledá makroskopickou i mikroskopickou (histopatologickou) cestou tzv. cílový - napadený orgán. Podle mezinárodních dohod se všechny testy, ale i počet histopatologicky hodnocených orgánů následně vyhodnocují. Z mezinárodního hlediska se těmito otázkami zabývá více organizací. Pro krajiny patřící do OECD (Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj) platí směrnice pro testování chemikálií (Guidelines for testing chemicals).

Poněkud ve vývojových stádiích jsou testy ekotoxikologické. Naše dosavadní legislativa vyžadovala pouze několik testů (možno je označit jako hydroekotoxikologické), které se dotýkají především odpadních vod, případně znečištění vodních toků, resp. spodních vod. Je to např. nejzákladnější stanovení akutní letální koncentrace zkoušené látky

pro ryby po 96-hodinové expozici. Z akvarijních ryb se nejčastěji používá *Poecilia reticulata* (paví očko) a *Lebistes reticulatum* (gupka). Pro chov ryb používaných k pokusům platí stejná pravidla jako pro laboratorní pokusná zvířata, což znamená především minimální mikrobiální zátěž. Navíc zde přistupuje přesná definice media, v tomto případě vody. Zjištěná toxicita se označuje analogickým symbolem LC₅₀.

K dalším hydroekotoxikologickým stanovením patří testy na 14-denní reprodukci na koryších *Daphnia magna* a 4-denní inhibice růstu vodních řas. Nejčastěji se používají nejjednodušší organismy, např. *Scenedesmus quadricauda*. Poměrně významným testem je stanovení akutní toxicity pro bakterie. V současné době se tento test v ČSFR používá jako doplňkový. Jeho význam je ale značný, protože informuje např. o vlivu zkoušené chemické látky (xenobiotika) na náplň biologických čističek apod. K provádění těchto testů se neuvžívá monokultur, nýbrž aktivovaného a anaerobně stabilizovaného kalu z čistíren odpadních vod.

Nelze se nezmínit o testu na abiotickou a biotickou degradaci (biokumulaci) zkoušené látky v ekologickém modelu, který přichází v úvahu po aplikaci, resp. znečištění chemickou látkou. Důležitou informací pro posouzení možnosti použití chemické látky je také dobrá znalost osudů této látky v přírodě. Především jde o její schopnost se v přírodě rozložit, resp. v negativním případě kumulovat, například možnost hydrolyzy, fotolýzy, oxidace za různých podmínek a v různých substrátech (matricích) apod. Vedle těchto faktorů je rovněž velmi závažná tzv. biodegradace.

V současné době se příkládá stále větší význam chování xenobiotika v rostlinné buňce. Není bez zajímavosti, že biotransformace chemických látek zde probíhá velmi nápadnou shodou s buňkou živočišnou. Vzniklý metabolit vchází do konjugační fáze tak, že se váže na sacharidickou složku, případně lignit. Za takových okolností zůstává pochopitelně vázán na substrát a může se dostat do potravinového řetězce, případně i jinak ohrožovat lidskou populaci, protože pevnost vazeb na konjugační systém není příliš velký. Je třeba se ještě zmínit o vzniku např. N-nitrososloučenin s karcinogenním účinkem, např. při tepelném zpracování ječmene na slad za nevhodných technických podmínek. Tento se pak stává zdrojem nežádoucích látek např. v pivu. Vystopování vzniku karcinogenních látek na všech možných úsecích v zemědělství není jednoduché, ani snadné. V každém případě je však velmi užitečné znát alespoň to, co již bylo prokázáno, a kde se toto riziko může objevit.

Monitorování rizika chemických xenobiotik, především škodlivin, by se nemělo provádět pouze pomocí chemické nebo lépe fyzikálně-chemické analýzy, ale pokud možno souběžně také biologicky. Biomonitoring na různých úrovních toxikologického testování je podstatně závažnější, protože přináší z hlediska skutečného toxikologického, případně ekotoxikologického rizika konkrétní údaje ohrožení pracovního, případně životního prostředí a lepší informace o zdravotním stavu obyvatelstva.