

Ekotoksykologia

Planowanie eksperymentów
Fragmentaryczne tabele przeżywania
Interakcje w ekotoksykologii
Układy doświadczalne
QSAR

Prof. dr hab. Ryszard Laskowski
 Instytut Nauk o Środowisku UJ
 Ul. Gronostajowa 7, Kraków
 pok. 2.1.2

<http://www.eko.uj.edu.pl/laskowski>

1 / 31

Problemy do dyskusji

- Jak szacować ryzyko dla populacji długo żyjących iteroparycznych organizmów?
 - Nie jesteśmy w stanie badać wpływu substancji toksycznej w ciągu całego życia organizmu
- Jak działają substancje toksyczne, gdy występują w mieszaninie z innymi substancjami?
 - Czy działanie substancji toksycznych po prostu sumuje się, czy też występują inne efekty?
- Czy warunki środowiskowe wpływają na toksyczność zanieczyszczeń?
 - Czy odczyn, temperatura, wilgotność itp. modyfikują oddziaływanie substancji toksycznych na organizmy?

2 / 31

Jak sprawdzić, które elementy historii życia gatunku są kluczowe dla jego wrażliwości na niekorzystne czynniki środowiskowe?

Wrażliwość λ na zaburzenia elementów macierzy

$$S_{ij} = \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}}$$

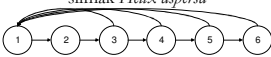
Elastyczność λ względem zaburzeń elementów macierzy

$$e_{ij} = \frac{a_{ij}}{\lambda} \frac{\partial \lambda}{\partial a_{ij}}$$

3 / 31

Porównanie elastyczności λ dla dwóch gatunków

ślimak *Helix aspersa*




Macierz projekcji *H. aspersa*

	1	2	3	4	5	6
1	0	0	75	75	75	75
2	0,052	0	0	0	0	0
3	0	0,2	0	0	0	0
4	0	0	0,25	0	0	0
5	0	0	0	0,25	0	0
6	0	0	0	0	0,15	0

Elastyczność

0	0	0,23	0,057	0,14	0,02	0
0,303	0	0	0	0	0	0
0	0,303	0	0	0	0	0
0	0	0,13	0	0	0	0
0	0	0	0,16	0	0	0
0	0	0	0	0,102	0	0

wij *Litobius mutabilis*



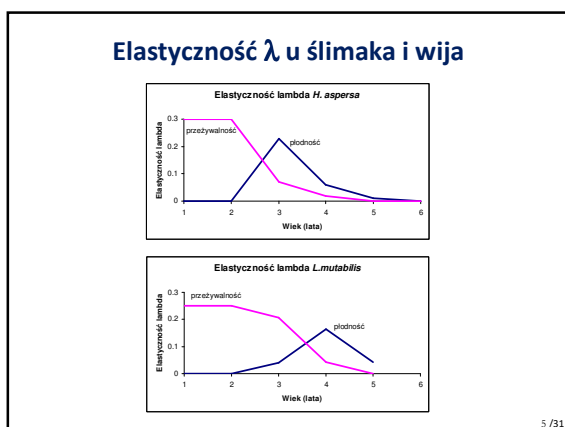
Macierz projekcji *L. mutabilis*

	1	2	3	4	5
1	0	0	5	22	13
2	0,049	0	0	0	0
3	0	0,69	0	0	0
4	0	0	88	0	0
5	0	0	0	0,457	0

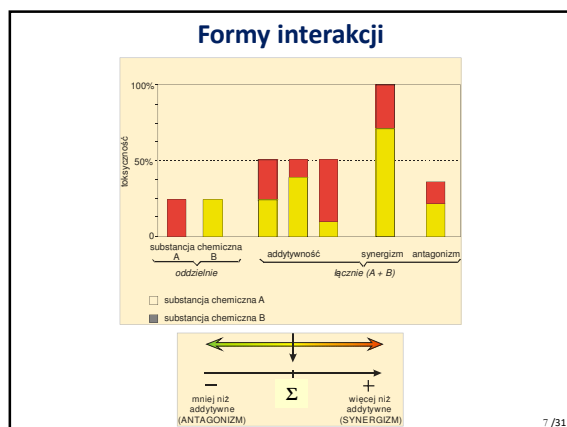
Elastyczność

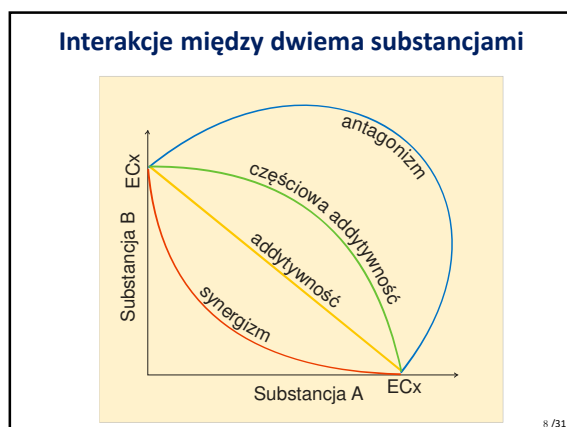
0	0	0,042	0,163	0,14	0
0,25	0	0	0	0	0
0	0,25	0	0	0	0
0	0	0,207	0	0	0
0	0	0	0,14	0	0

4 / 31



- ### Interakcje między substancjami toksycznymi oraz między nimi a czynnikami środowiskowymi
- Substancje toksyczne rzadko występują pojedynczo:
 - zanieczyszczenie przez huty → np. Zn + Cd + Pb + ... + SO₂ + NO_x + ...?
 - zanieczyszczenie przez przemysł chemiczny → PCB + WWA + ... + SO₂ + NO_x + ...?
 - Odmienne grupy substancji toksycznych działają na różne mechanizmy biochemiczne i fizjologiczne:
 - np. pestycydy vs. metale
 - Niektóre toksyczne substancje chemiczne mogą reagować ze sobą, dając w wyniku substancje albo bardziej, albo mniej toksyczne od substratów.
 - Warunki środowiskowe mogą wpływać na toksyczność.
- 6 / 31





Jednostki toksyczności i toksyczność mieszanin

$$TU_i = \frac{c_i}{EC50_i}$$

TU_i – jednostka toksyczności; c_i – stężenie substancji i

Toksyczność mieszaniny wyrażona jako indeks toksyczności (TI):

$$\sum_{i=1}^n TU_i = TI$$

9 / 31

Przydatność jednostek i indeksów toksyczności

W doświadczeniach laboratoryjnych nad toksycznością mieszanin

W badaniach terenowych w rejonach skażonych wieloma substancjami

The figure shows four isobologram plots for laboratory experiments: reference (CA), S/A, DR, and DL. Each plot has [TOXICANT 1] on the x-axis and [TOXICANT 2] on the y-axis, both ranging from 0 to 100. The plots show different curves representing various toxicity indices. To the right is a scatter plot of exp (wskaznik Shannona) on the y-axis (ranging from 5.8 to 7) versus Log TI on the x-axis (ranging from -0.4 to 2.6). The data points are blue squares with a downward-sloping trend line.

10 / 31

Interakcje między substancjami toksycznymi w rzeczywistości: chrząszcze (*Poecilus cupreus*) zamieszkujące rejon silnie skażony (OLK2, OLK3) są bardziej wrażliwe na pestycyd (dimetoat).

The graph is titled "Estimated Survival Function". The y-axis is "survival probability" from 0 to 1. The x-axis is "ttd" from 0 to 1200. Five curves represent different sites: OLK2 (red), OLK3 (magenta), OLK4 (orange), OLK6 (green), and OLK7 (dark green). OLK2 and OLK3 show the lowest survival probability over time, indicating higher sensitivity to the pesticide.

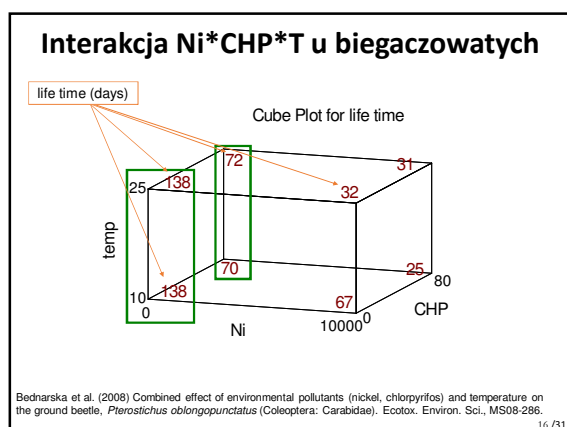
11 / 31

Interakcje z innymi czynnikami środowiskowymi: wpływ interakcji Zn i fenantrenu na ich toksyczność dla ryb *Cyprinodon variegatus*

The graph shows the interaction between zinc and phenanthrene toxicity. The top x-axis is "Log of zinc concentration (mg/L)" from 0.25 to 1.75. The bottom x-axis is "Log of phenanthrene concentration (mg/L)" from -1.185 to 0.335. The left y-axis is "Mortality (probab)" from 0 to 1. The right y-axis is "% mortality" from 0 to 99. Two curves are shown: "Predicted from additive action" and "Observed data". The observed data shows a higher mortality rate than predicted by additive action at certain concentrations.

C. J. Moreau, P. L. Klerks, C. N. Haas. 1999. Interaction Between Phenanthrene and Zinc in Their Toxicity to the Sheepshead Minnow (*Cyprinodon variegatus*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37: 251-257.

12 / 31



Plany doświadczalne do badania wpływu kilku substancji toksycznych równocześnie

- Plan kompletny $n^{(k)}$: możliwość oceny wszystkich k efektów głównych i efektów wszystkich interakcji, ale bardzo pracochłonny:
 - np.: 3 stężenia dla 4 substancji $\rightarrow 3^4 = 81$ zabiegów x 3 powtórzenia = 243 jednostek
 - dla 5 substancji $\rightarrow 729$ jednostek
 - dla 6 substancji $\rightarrow 2187$ jednostek.
- Plany cząstkowe $n^{(k-p)}$: brak możliwości oceny efektów interakcji wyższego rzędu, ale ocena efektów głównych i efektów interakcji niższego rzędu możliwa przy znacznie mniejszym nakładzie pracy.
 - Często stosowane w przemyśle ze względu na ekonomiczność

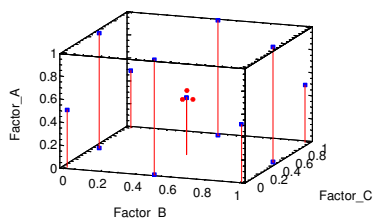
17/31

Plany doświadczeń użyteczne w ekotoksykologii

- **Plan kompletny wielopoziomowy**
 - badane są wszystkie kombinacje wszystkich stężeń: $n^{(k)}$
 - zdecydowanie najlepszy, ale najbardziej pracochłonny: min. 3 stężenia \rightarrow dla 3 substancji $N=3^3 = 27$ (bez powtórzeń!)
- **Plany cząstkowe**
 - badane są tylko niektóre kombinacje stężeń: $n^{(k-p)}$
 - **układ Boxa-Behnkena:** $3^{(k-p)}$ \rightarrow dla 3 substancji $N=15$
 - **układy centralne złożone:** brak założeń odnośnie liczby stężeń \rightarrow można analizować dowolny zbiór ciągłych wartości wielkości wejściowych (n)

18/31

Układ Boxa-Behnkena dla 3 substancji



22/31

W planach frakcyjnych konieczne jest zapoznanie się z macierzą korelacji między badanymi efektami

Macierz korelacji między efektami dla układu Boxa-Behnkena

	A	B	C	AA	AB	AC	BB	BC	CC
A	--								
B	0.0000	--							
C	0.0000	0.0000	--						
AA	0.0000	0.0000	0.0000	--					
AB	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	--				
AC	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	--			
BB	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0714	0.0000	0.0000	--		
BC	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	--	
CC	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0714	0.0000	0.0000	-0.0714	0.0000	--

→ brak korelacji >0.5 → prawdopodobnie łatwa interpretacja wyników

23/31

Czy w ekotoksykologii można obejść się bez eksperymentów?

- Odpowiedź krótka: NIE
- Odpowiedź bardziej zawiła: do pewnego stopnia
 - skutki działania pojedynczych substancji można z grubsza przewidzieć znając ich budowę chemiczną → **QSAR** – Quantitative Structure-Activity Relationships (ilościowa analiza zależności struktura-aktywność)
 - skutki działania mieszanin można z pewnym przybliżeniem przewidzieć na podstawie odpowiednich modeli interakcji: addytywnego, antagonistycznego lub synergistycznego

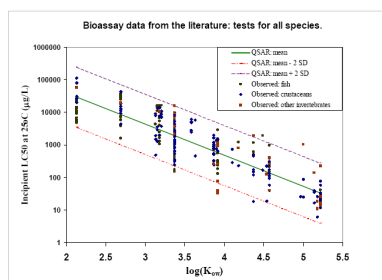
24/31

QSAR – Quantitative Structure-Activity Relationships

- Stosowana w przemyśle medycznym przy opracowywaniu nowych leków
- W praktyce polega na połączeniu ograniczonej liczby danych empirycznych i wiedzy chemicznej, aby ocenić toksyczność analogów substancji o znanej toksyczności
- Jednym z najprostszych sposobów jest przewidywanie toksyczności na podstawie hydrofobowości substancji
 - hydrofobowość substancji wpływa na:
 - dostępność dla organizmu („biodostępność”) i łatwość akumulacji)
 - metabolizm
 - toksyczność

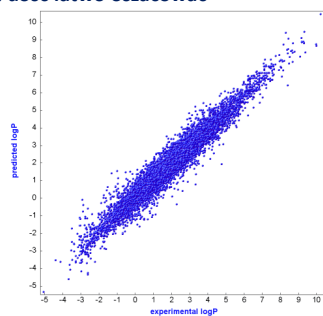
25 /31

K_{ow} - współczynnik podziału oktanol/woda jako miara hydrofobowości substancji chemicznych:
toksyczność różnych węglowodorów występujących w ropie naftowej – ocena toksyczności wylewów ropy do morza



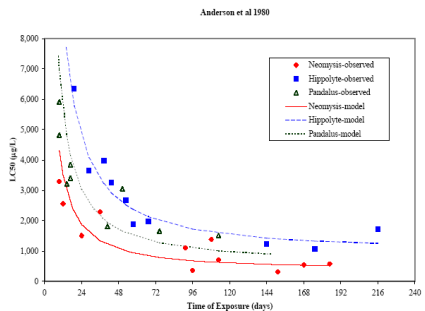
26 /31

K_{ow} - współczynnik podziału oktanol/woda jako miara hydrofobowości substancji chemicznych:
 K_{ow} jest dość łatwo oszacować



27 /31

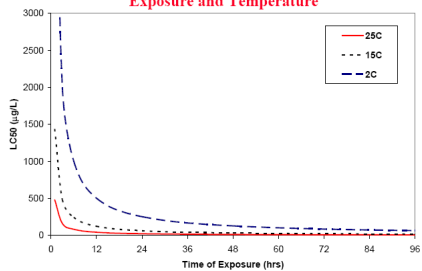
Pamiętaj o czasie ekspozycji...



28 /31

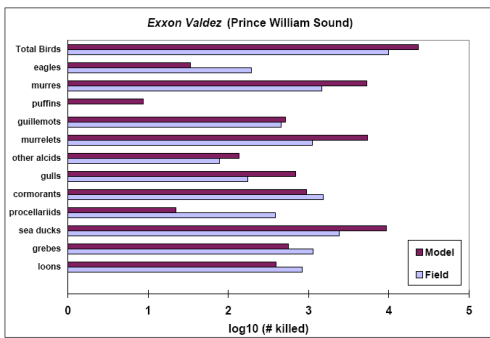
...i o temperaturze w środowisku

Model Corrects for Duration of Exposure and Temperature



29 /31

Jak to się sprawdza w praktyce?



30 /31

Podsumowanie

- Zwierzęta długo żyjące → analiza elastyczności λ → **badanie elementów historii życiowej o największym wpływie na λ .**
- W naturze substancje toksyczne rzadko występują pojedynczo → **na organizm działa wiele na raz.**
- Substancje toksyczne mogą wchodzić w interakcje → **możliwy antagonizm lub synergizm.**
- Badanie efektów wieloczynnikowych może być bardzo kosztowne → **układy kompletne vs frakcyjne.**
- Toksyczność można czasami przewidzieć z zadowalającym przybliżeniem przy pomocy metod obliczeniowych → **K_{ow} , QSAR, modele interakcji.**

31 / 31
