

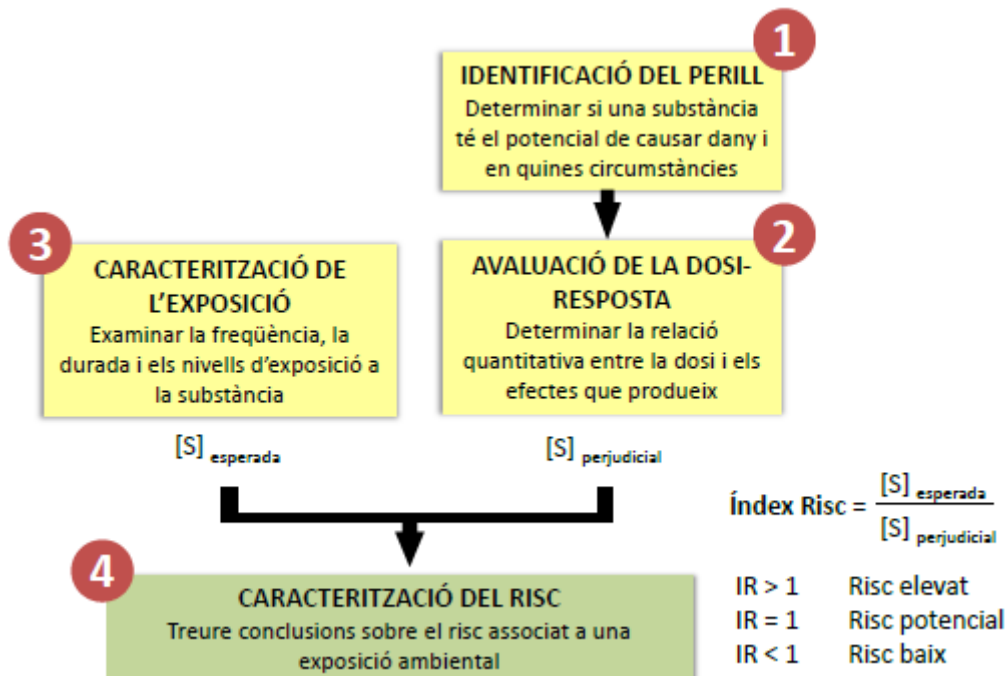
## T18 AVALUACIÓ DE LA TOXICITAT

En aquest tema tractarem varies conceptes:

- Relació dosi-resposta
- Respostes graduals i quàntiques
- Índex de toxicitat
- Variabilitat i limitacions dels índex de toxicitat

La gran pregunta d'aquest tema és: l'exposició que patim a varies substàncies contaminants, ens són perjudicials? Sí que estem exposats, ja es dona per suposat, però ens es perjudicial? Un exemple bastant comú a avaluar són les altres concentracions de mercuri que arriben a acumular (biomagnificació) algunes espècies animals com la tonyina vermella.

Per tal de fer una avaluació del risc biològic, hem de tenir en compte 4 fases diferents.



### 1. Identificació del perill.

Es tracta de determinar si una substància té el potencial de causar dany i en quines circumstàncies.

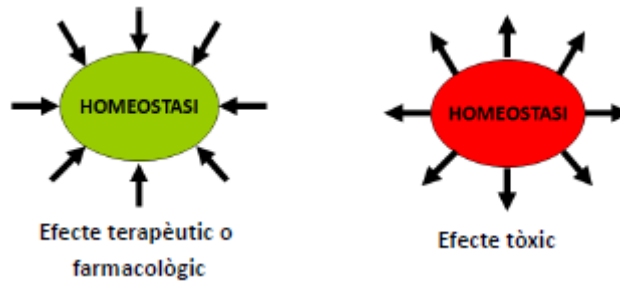
Per començar, definir que és un **tòxic**:

- Substància metzinoses o verinoses
- Element o compost químic que, en quantitats relativament petites, pot provocar trastorns o la mort a conseqüència de les lesions degudes a l'efecte químic.

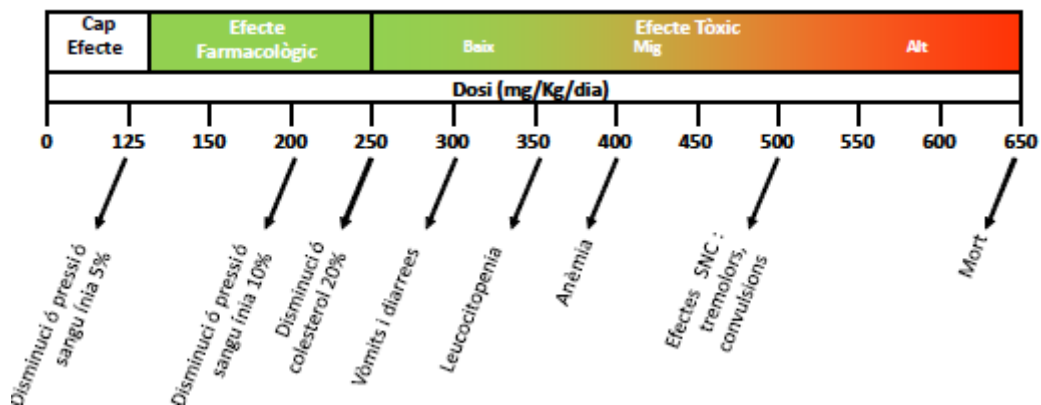
Es a dir, es tracta d'una substància que pot provocar efectes perjudicials. Cal ser conscient, de que en realitat qualsevol substància pot ser tòxica, simplement depèn de la dosi en que es troba.

Com exemples, recordar que al 2007, hi va haver una dona que va ingerir tal quantitat d'aigua en un concurs (per guanyar una Wii) que sofrí una hiperhidratació amb una conseqüent hiponatremia (disminució de Na en plasma: <100mmol/L), causant edemes cerebrals, coma i mort, poc després de finalitzar el concurs. O com a cas contrari la utilització de tòxics com l'heroïna i la cocaïna com a fàrmacs a principis de segle; o la utilització de la toxina botulínica (DL<sub>50</sub> de toxines naturals més baixa coneguda= 0,00001mg/kg), que provoca una inhibició de l'alliberament d'Ach i conseqüent paràlisi facial, en tractaments estètics (botox).

Amb tot això, més que parlar de tòxics, hem de parlar de toxicitats. La toxicitat és l'efecte advers o deleteri d'una substància en un organisme. Tal substància provoca canvis bioquímics, morfològics, fisiològics, de creixement, de desenvolupament o de longevitat en un organisme que resulta en una incapacitat funcional de compensar l'estrès general. És la capacitat de una substància d'allunyar l'organisme de l'equilibri potencial.

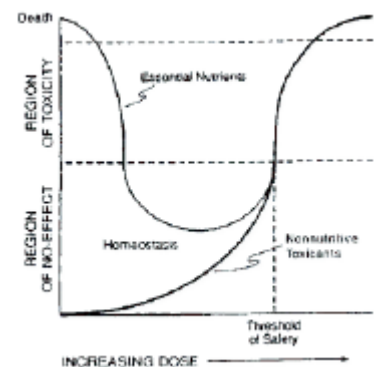


En el següent gràfic s'observa com una mateixa substància a diferents dosis pot passar de no fer efecte a passar d'efectes terapèutics a efectes tòxics de diferent intensitat. Cosa que ja comentava el Pare de la toxicologia (Paracels) : "totes les substàncies són tòxiques, La dosi justa diferencia un verí d'un remei".

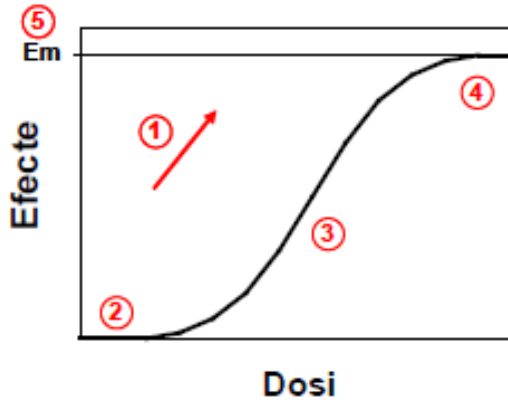


**2. Avaluació de la dosi resposta i paral·lelament, caracterització de l'exposició.**

La relació dosi-resposta, és la relació entre el nivell d'exposició a una substància i la magnitud de la reacció biològica (efecte). Recordar que a l'eix de les x sempre trobarem la causa, la .... invariable, mentre que al de les y trobarem la conseqüència, la variable. Podem observar dos tipus de corbes segons el tipus de substància estem avaluant. En cas de ser substàncies essencial,



com els nutrients, tindrem una corba en forma de U. On a concentracions molt baixes es poden patir efectes tòxics i a mesura que augmenta la dosi, arribem a una regió òptima, fins que de nou tornem a regions perjudicials un cop augmenti massa la dosi.



En canvi per substàncies exògenes, no essencials, la presentació de la corba serà sigmoïdal, on a dosis baixes no a mesura que augmenta la dosi, augmenta l'efecte (1). Però hi ha varies fases dins aquest corba: la fase (2) trobem la dosi mínima, on no hi ha cap tipus d'efecte, la fase (3) es tracta d'una regió amb increment lineal, un increment màxim, on a mesura que augmenta la dosi, augmenta la resposta; i finalment a la fase (4) arribem a una zona de saturació, on l'efecte és màxim i no pot incrementar.

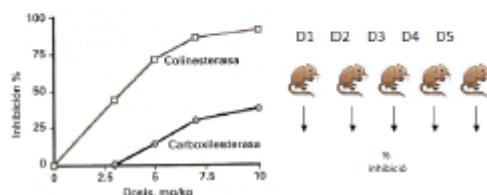
Hi ha un interval estàndard de dosi mínima i màxima, que és: de 0mg/kg a 1000 mg/Kg.

**Dosi:** quantitat d'una substància que és administrada o absorbida per un organisme, òrgan o teixit en una unitat de temps o durant tot el curs d'un tractament. I s'expressa en relació a:

- Pes (mg/kg, mols/kg)
- Superfície (mg/cm<sup>2</sup>)

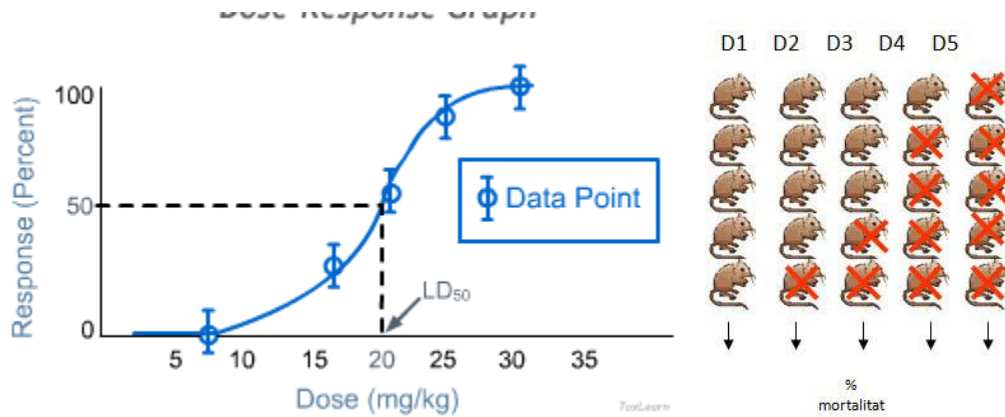
Tipus de resposta

GRADUAL O INDIVIDUAL	QUÀNTICA O POBLACIONAL
Inhibició enzimàtica Ritme cardíac Temperatura corporal Freqüència respiratòria	Infart Càncer Cirrosis Mort
Quantitativa	Qualitativa
Var. contínues	Var. discretes (0/1)
1 individu	1 població
Unitats segons variable	% resposta poblacional



- Gradual, proporcionant diferents dosis a diferents individus i comprovant la diferències de resposta entre ells.

- Quàntica → mesura la població, i és una mesura qualitativa (o si o no) on en corba dosi-resposta les unitats sempre seran percentatges i en la gràfica cada punt representarà una població sencera. (cada població tindrà un % de mortalitat)



A partir d'aquest tipus de resposta podem definir la dosi tòxica (administrada), serà la quantitat de substància necessària per a provocar un efecte tòxic i això depèn de:

- Via d'administració
- Distribució en el temps (dosi única o repetida)
- Temps necessari x a produir el dany
- Naturalesa de l'organisme afectat (sensibilitat)
- etc..

I també definirem diferents índex de toxicitat, com la **dosi letal (DL)**: dosi administrada que produeix la mort d'un ésser viu (cal especificar el tipus d'exposició com el temps, la via, etc); la **DL<sub>50</sub>** (dosi letal mitjana): dosi que produeix la mortalitat del 50% dels individus i també altres índex com DL<sub>1</sub>, DL<sub>25</sub>, DL<sub>75</sub>, DL<sub>90</sub>. Conceptualment no pot existir una sola DL<sub>0</sub> o una DL<sub>100</sub>; ja que a partir d'una dosi màxima totes seran DL<sub>100</sub> i el mateix amb una mínima.

Un concepte apart i incomparable amb l'anterior, és la **Concentració letal (CL)**, concentració al medi (aire, aigua) que produeix la mort a un ésser viu. I la **CL<sub>50</sub>** com a concentració al medi que produeix mortalitat al 50% dels individus.

Les DL<sub>50</sub> són unes mesures que actualment són poc eficients, ja que per fer l'estudi has de sacrificar varis animals; però si que serveix per comparar toxicitats de diferents substàncies en una mateixa espècie, o els efectes d'una mateix tòxic a diferents espècies.

Variabilitat DL50 segons:

- Via d'exposició:

PESTICIDES	MOLT TÒXIC	TÒXIC	NOCIU
ORAL (RATA, LD50 mg kg <sup>-1</sup> )	<25	25-200	200-2.000
CUTÀNIA (RATA-CONILL, LD50 mg kg <sup>-1</sup> )	<50	50-400	400-2.000
INHALATÒRIA (RATA, 4h LC50 mg L <sup>-1</sup> )	<0,50	0,5-2	2-20

**DL<sub>50</sub> Diclorvos (rata):**

Oral LD<sub>50</sub>: 56 mg/kg

Dermal LD<sub>50</sub>: 75 mg/kg

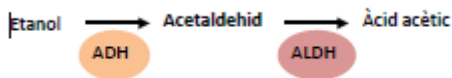
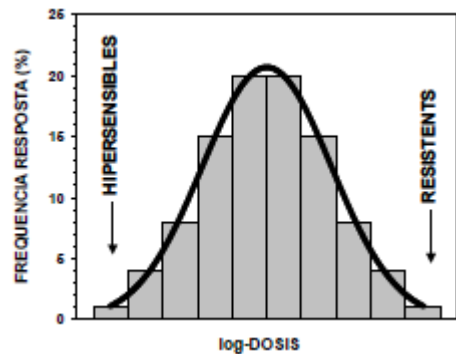
Intraperitoneal LD<sub>50</sub>: 15 mg/kg

Inhalació LC<sub>50</sub> (4h): 1.7 ppm (15 mg/m<sup>3</sup>)

Podem observar que hi ha diferències de toxicitat segons les vies, on la via d'administració més tòxica seria la intraperitoneal, pel fet que perd menys substància pel camí, ja que es salta el pas de l'absorció. I també observem que l'absorció oral és més ràpida que la dèrmica, per tant la via d'administració amb més rang de seguretat seria la dèrmica.

- Intrapoblacional → polimorfismes

Observem que la majoria d'individus tenen la DL50 a valors mitjos, i després, hi ha una quantitat d'individus hipersensibles i d'altres més resistents. I aquestes diferències normalment es deuen pel tipus de metabolisme que presenta l'individu. Els que presenten un metabolisme ràpid, alhora de detoxificar una substància, els afectarà menys la toxicitat, ja que s'eliminarà ràpidament. I viceversa en cas de que el tòxic sigui el metabolit i no la substància injectada en si.



Un exemple clàssic és l'afectació de l'etanol a les persones. Els asiàtics són més sensibles als efectes, ja que presenten una activitat de ADH molt ràpida i de ALDH molt lenta, de manera que s'els acumula més quantitat d'àcid aldehid! Per tant té més a veure amb l'eficiència de l'enzim i no tant en la quantitat d'aquest. Aquestes diferències provenen de les varietats genètiques dels gens que codifiquen aquests enzims.

Hi ha moltes més variabilitats, classificables en intraespecífiques ( raça, sexe, edat, hàbitat, dieta, etc ) i interespecífiques (fluoroacetat sòdic)

Sexe	DL <sub>50</sub> (mg /kg)	
	♂	♀
Digitoxina	56	94
Trifluoperidol	140	360
Dieldrin	119	213
Paratió	3,8	9

Espècie	DL <sub>50</sub> (mg /kg)
Gos	0,1
Gat	0,2
Vaca	0,4
Cavall	0,4
Ovella	0,25
Mico rhesus	0,4
Mico aranya	15
Marmota	<0,05
Rata	2
Ratolí	8
Ànec silvestre	9
Granota	54
Gripau	>500

O d'altres variabilitats com la via d'exposició, ja que intraperitoneal té més risc de toxicitat, que dèrmic, que oral.

**La utilitat de la DL<sub>50</sub>:**

- Comparar la toxicitat de diferents compostos en una espècie (toxicitat relativa), l'experiment s'ha de fer en condicions estàndard : en rata, via oral i dosi única.
- Permet comparar la toxicitat d'un compost a igual concentració en diferents espècies (sensibilitat), on l'espècie que presenti la dosi més petita serà el més sensible.

Hi ha taules de toxicitat aguda d'algunes substàncies representatives. Així i tot, és un índex d'aplicació limitada. Uan de les limitacions més importants d'aquest índex, és que en realitat no ens interessa saber quina dosi ens mata el 50% de la població, sinó saber quina és la dosi màxima que es pot ingerir un individu sense que presenti efectes. Amés ja sabem que és un índex no és una constant biològica, que depén de l'espècie, la raça, el sexe, factors ambientals, etc i d'altres inconvenients com:

- Condicions experimentals (dosi controlada, cohorts homogènies)
- No informa sobre els efectes en una exposició crònica
- No informa sobre possibles efectes carcinògenics
- No informa sobre la gravetat dels símptomes en els supervivents
- No informa sobre els efectes a nivell d'ecosistema
- Aporta informació quan el dany és irreversible



Per tot això, hi ha altres índex de toxicitat més eficaços i per fer una bona avaluació de risc toxicològics, es tenen en compte vàris esglaons.

- **NOAEL** (*Non observed adverse effect level*): dosi màxima diària (mg/kg/dia) que no produeix efectes adversos observables a l'animal

considerat

- **LOAEL** (*Lowest observed adverse effect level*): dosi més baixa capaç de produir efectes adversos observables

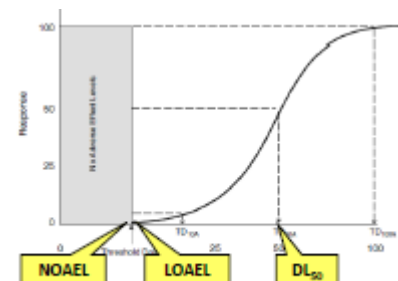
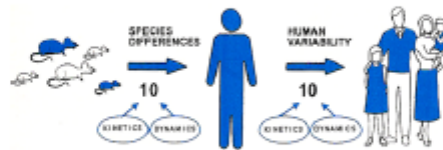


Fig. 4. Dose-response curve showing threshold dose, TD<sub>10</sub>, TD<sub>50</sub>, and TD<sub>100</sub>.

**Límits tolerables d'exposició**

Dosi d'un producte (mg/kg/dia) que pot penetrar a l'organisme humà diàriament, durant tota la vida, **sense que resulti perjudicial per a la salut**. IDA= Ingesta Diària Admissible.

$$IDA = \frac{NOAEL \text{ o } LOAEL}{\text{Factors d'incertesa}}$$



**Factors d'incertesa:**

- Variabilitat interespecífica x 10
- Variabilitat intraespecífica x 10
- Ús del LOAEL enlloc del NOAEL x 10

$$IDA = \frac{NOAEL}{V_{intersp} \times V_{intrasp}}$$

**Concentracions màximes permessibles:** a partir dels valors de ADI o equivalents (TDI, RfD) i amb tot, la possible aplicació en toxicologia alimentària, ambiental i laboral.

$$CMP = \frac{ADI \times \text{Pes corporal (Kg)}}{\begin{matrix} \text{Aliment ingerit (Kg)} \\ \text{o} \\ \text{Aigua ingerida (L)} \\ \text{o} \\ \text{Aire respirat (L)} \end{matrix}}$$

Estima poblacional

Estima poblacional

**4. Finalment, la caracterització del risc.**

En el qual compararem la concentració màxima permessible amb la concentració real.

**TOXICOLOGIA EXPERIMENTAL**  
 Consens científic basat en dades experimentals  
 (Actualitzable segons els resultats de recerca!)

[S]<sub>Màx. Permissible</sub>

**TOXICOLOGIA ANALÍTICA**  
 Anàlisis químiques al laboratori

[S]<sub>aliment</sub>

$$\text{Índex Risc} = \frac{[S]_{esperada}}{[S]_{màx. permess.}}$$

IR > 1    Risc elevat  
 IR = 1    Risc potencial  
 IR < 1    Risc baix

D'aquesta manera, si la concentració real de l'animal és superior a la concentració màxima permesa, correm un risc de toxicitat. Però per tot això hi ha d'haver una bona extrapolació des de l'animal. Recordar que les concentracions màximes permissibles s'obtenen a partir d'un consens científic, per tant poden anar variant amb el temps, ja que depèn dels experiments realitzats i una substància que ara considerem saludable, en un futur pot no ser-ho tant.

### **PROBLEMAAA**

Avui he anat al mercat a comprar peix. Els nutricionistes diuen que consumir peix és molt bo per la salut, però jo estic preocupada pels possibles efectes perjudicials dels contaminants que conté. Un estudi realitzat per Peré-Trepat (2006) mostra que la suma de les concentracions de **DDT, DDE i DDD** en peixos recol·lectats a les conques de Catalunya és, de mitjana, **0.07 mg/Kgaliment**. Peré-Trepat et al. (2006) *Science of the Total Environment* **371**: 223–237 Un **estudi experimental** realitzat amb rates de 200 g de pes i un consum mitjà de pinso de 15 g/dia, mostra que la concentració màxima de DDT i metabòlits per la qual no s'observen efectes adversos és de 2.5 mgDDT/Kgpinso. **Respon:**

- 1) Quina és la ingesta diària admissible (IDA) d'aquest aliment?
- 2) Suposa un risc per la meua salut consumir aquest aliment?
- 3) I pel meu fill d'1 any?

Dades addicionals: Pes adult mitjà: 80 Kg Pes nadó: 10 Kg Consum de peix diari: 250 g

### **RESOLUCIÓ:**

#### Càlcul del NOAEL

Espècie utilitzada: rata

Pes: 200 g

Consum pinso: 15 g/rata/dia

Concentració tòxic que no causa efecte: 2.5 mg/Kg<sub>pinso</sub>

$$\text{NOAEL} = \frac{15 \text{ g}_{\text{pinso}}}{0.2 \text{ Kg}_{\text{BW}} \cdot \text{dia}} \cdot \frac{2.5 \text{ mg}_{\text{DDT}}}{1000 \text{ g}_{\text{pinso}}} = 0.19 \text{ mg}_{\text{DDT}}/\text{Kg}_{\text{BW}}/\text{dia}$$

#### Càlcul de la ADI en humans

$$\text{ADI} = \text{NOAEL}/10/10 = 0.002 \text{ mg}/\text{Kg}_{\text{BW}}/\text{dia}$$

#### Càlcul de la Concentració Màxima Permissible en aliment

$$\text{CMA} = \text{ADI} \times \text{pes}_{\text{BW}} / \text{Dieta estàndard}$$

$$\text{Per un adult: CMP} = 0.002 \text{ mg}/\text{Kg}_{\text{BW}}/\text{dia} \times 80 \text{ Kg}_{\text{BW}} / 0.25 \text{ Kg}_{\text{aliment}}/\text{dia} = 0.64 \text{ mg}_{\text{DDT}} / \text{Kg}_{\text{aliment}}$$

$$\text{Per un nadó: CMP} = 0.002 \text{ mg}/\text{Kg}_{\text{BW}}/\text{dia} \times 10 \text{ Kg}_{\text{BW}} / 0.25 \text{ Kg}_{\text{aliment}}/\text{dia} = 0.08 \text{ mg}_{\text{DDT}} / \text{Kg}_{\text{aliment}}$$

$$\Sigma \text{ concentracions de DDT, DDE i DDD} = 0.07 \text{ mg}_{\text{DDT}}/\text{Kg}_{\text{aliment}}$$