

## ***Tema 28: Toxicidad de mezclas***

### ***Introducción***

- En la naturaleza los organismos pueden estar expuestos a una mezcla de diferentes compuestos el mismo tiempo.
- La exposición a mezclas puede resultar en interacciones toxicológicas.
- Una *interacción toxicológica* es una interacción en la cual la exposición a dos o más sustancias químicas resulta en una respuesta biológica cuantitativa o cualitativamente diferente de la esperada de la acción de cada una de las sustancias por si sola.
- La exposición a múltiples sustancias puede ser secuencial o simultánea en el tiempo y la respuesta alterada puede ser mayor o menor.
- La interacción puede ocurrir por mecanismos tales como:
  - alteración en la absorción,
  - unión a proteínas, y
  - biotransformación o excreción de uno o más compuestos que interactúan.

## ***Tipos de acción conjunta, 1***

La exposición a dos sustancias tóxicas puede producir una respuesta que sea simplemente aditiva, o que sea mayor o menor que la esperada de la suma de las respuestas individuales.

Varios términos usados para definir las interacciones toxicológicas:

- ***Efecto aditivo***: Ocurre cuando el efecto combinado de las dos sustancias es igual a la suma de los efectos individuales ( $1 + 1 = 2$ ). Normalmente, se observa cuando las dos sustancias son aplicadas juntas.
- ***Efecto sinérgico (sinérgico), más que aditivos***: Ocurre cuando el efecto combinado de los dos tóxicos es mucho mayor que la suma de los efectos individuales cuando están solos ( $1 + 1 = 5$ ).
- ***Potenciación, más que aditivos***: Ocurre cuando un compuesto tiene un efecto tóxico sólo cuando se aplica con otro compuesto, o cuando una sustancia atóxica incrementa el efecto de otra sustancia tóxica ( $0 + 1 = 4$ ).
- ***Efecto antagonico, menos que aditivos***: Ocurre cuando dos compuestos químicos, aplicados juntos, interfieren entre si en sus acciones o cuando uno interfiere con el otro ( $2 + 3 = 4$ ).

## ***Tipos de acción conjunta, 2***

Las interacciones pueden ser diferentes, incluso opuestas, dependiendo de la magnitud de la exposición (p. ej., aditiva a bajas concentraciones y antagonicas a altas dosis).

Los factores ambientales pueden influir en las interacciones:

- condiciones desfavorables para la supervivencia de los organismos serán sinérgicos, mientras que las condiciones favorables serán antagonicas.

Algunos ejemplos:

Aditivos: Cu y Zn

Más que aditivos: insecticidas organofosforados

O<sub>3</sub> y NO<sub>2</sub> con SO<sub>2</sub> en plantas

Menos que aditivos: Pocos y escasos ejemplos en el medio marino. Algunos en mamíferos. La base de muchos antídotos en humanos.

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         |      | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         |      | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
|                         |      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0    | 8,5                                     | 11,8 | 8,3  | 14,4                                    | 18,8 | 14,2 | 18,3                                    | 25,9 |      |
| 0,0025                  | 9,5  | 10,7                                    | 14,5 | 13,9 | 16,2                                    | 22,6 | 18,8 | 29,0                                    | 51,3 |      |
| 0,005                   | 12,1 | 18,7                                    | 21,8 | 18,9 | 21,3                                    | 23,2 | 35,5 | 36,5                                    | 67,8 |      |

Tabla tomada de Clark, R.B. "Marine Pollution", 2º edición. 1989. pg. 72.

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         |      | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         |      | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
|                         |      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0    | 8,5                                     | 11,8 | 8,3  | 14,4                                    | 18,8 | 14,2 | 18,3                                    | 25,9 |      |
| 0,0025                  | 9,5  | 10,7                                    | 14,5 | 13,9 | 16,2                                    | 22,6 | 18,8 | 29,0                                    | 51,3 |      |
| 0,005                   | 12,1 | 18,7                                    | 21,8 | 18,9 | 21,3                                    | 23,2 | 35,5 | 36,5                                    | 67,8 |      |

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         |      | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         |      | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                         |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) |      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0    | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
| 0,0025                  | 9,5  | 10,7                                    | 14,5 | 13,9 | 16,2                                    | 22,6 | 18,8 | 29,0                                    | 51,3 |      |
| 0,005                   | 12,1 | 18,7                                    | 21,8 | 18,9 | 21,3                                    | 23,2 | 35,5 | 36,5                                    | 67,8 |      |

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         |      | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         |      | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                         |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) |      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0    | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
| 0,0025                  | 9,5  | 10,7                                    | 14,5 | 13,9 | 16,2                                    | 22,6 | 18,8 | 29,0                                    | 51,3 |      |
| 0,005                   | 12,1 | 18,7                                    | 21,8 | 18,9 | 21,3                                    | 23,2 | 35,5 | 36,5                                    | 67,8 |      |

Porcentaje de reducción del crecimiento de *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         |      | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         |      | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                         |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) |      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0    | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
| 0,0025                  | 9,5  | 10,7                                    | 14,5 | 13,9 | 16,2                                    | 22,6 | 18,8 | 29,0                                    | 51,3 |      |
| 0,005                   | 12,1 | 18,7                                    | 21,8 | 18,9 | 21,3                                    | 23,2 | 35,5 | 36,5                                    | 67,8 |      |

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         |      | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         |      | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                         |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) |      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0    | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
| 0,0025                  | 9,5  | 10,7                                    | 14,5 | 13,9 | 16,2                                    | 22,6 | 18,8 | 29,0                                    | 51,3 |      |
| 0,005                   | 12,1 | 18,7                                    | 21,8 | 18,9 | 21,3                                    | 23,2 | 35,5 | 36,5                                    | 67,8 |      |

$$12,1 + 11,8 + 14,2 = 38,1$$

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                         | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
| 0,0025                  | 9,5                                     | 10,7 | 14,5 | 13,9                                    | 16,2 | 22,6 | 18,8                                    | 29,0 | 51,3 |
| 0,005                   | 12,1                                    | 18,7 | 21,8 | 18,9                                    | 21,3 | 23,2 | 35,5                                    | 36,5 | 67,8 |

Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                         | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|-------------------------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                         | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                         | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub> (ppm) | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
| 0                       | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
| 0,0025                  | 9,5                                     | 10,7 | 14,5 | 13,9                                    | 16,2 | 22,6 | 18,8                                    | 29,0 | 51,3 |
| 0,005                   | 12,1                                    | 18,7 | 21,8 | 18,9                                    | 21,3 | 23,2 | 35,5                                    | 36,5 | 67,8 |

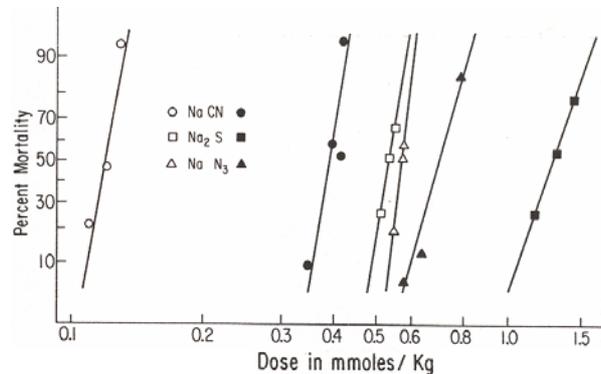
Porcentaje de reducción del crecimiento del protozoo ciliado *Cristigera* causado por diferentes concentraciones y combinaciones de sales de metales

|                            |        | ZnSO <sub>4</sub> (ppm)                 |      |      |   |      |      |   |      |      |
|----------------------------|--------|---|------|------|---|------|------|---|------|------|
|                            |        | 0                                       |      |      | 0,125                                   |      |      | 0,25                                    |      |      |
|                            |        | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ppm) |      |      |
| HgCl <sub>2</sub><br>(ppm) | 0      | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 | 0                                       | 0,15 | 0,30 |
|                            | 0      | 0                                       | 8,5  | 11,8 | 8,3                                     | 14,4 | 18,8 | 14,2                                    | 18,3 | 25,9 |
|                            | 0,0025 | 9,5                                     | 10,7 | 14,5 | 13,9                                    | 16,2 | 22,6 | 18,8                                    | 29,0 | 51,3 |
|                            | 0,005  | 12,1                                    | 18,7 | 21,8 | 18,9                                    | 21,3 | 23,2 | 35,5                                    | 36,5 | 67,8 |

### *Tipos de antagonismos*

- Cuatro tipos:
- **Antagonismo funcional:** Cuando dos sustancias químicas se compensa una a la otra por ocasionar efectos opuestos sobre la misma función biológica.
- **Antagonismo químico:** Es una reacción química entre las dos sustancias para producir un producto menos tóxico.
- **Antagonismo de disposición:** Ocurre cuando la absorción, biotransformación, distribución o excreción de un compuesto es cambiado de manera que su concentración y/o duración del compuesto en el centro diana disminuyen.
- **Antagonismo de receptor:** Cuando los dos compuestos que se unen al mismo centro receptor producen un efecto menor cuando están juntos que el efecto de la suma de sus efectos individuales.

Relación dosis-mortalidad en ratones para las sales de sodio de cianuro, sulfuro y azida actuando solas y después de administrarse una dosis constante (1,1 mmol/Kg) de nitrito sódico.



Los símbolos claros muestran los efectos de los tres tóxicos. Los negros de la misma forma muestran lo que sucede con los tres tóxicos cuando se administran un poco después de haberse administrado el nitrito a los ratones.

El nitrito tiene una significativa, aunque limitada, capacidad antagonista (antídota), frente al cianuro.

Si se incrementa la dosis del antagonista, el efecto antídoto también se incrementa, pero hay un límite impuesto por la toxicidad del propio nitrito cuando se estudia su efecto tóxico en las mismas condiciones que en los casos anteriores es de 2,3 mmol/Kg. El aumento de dos veces en la dosis cambia de un efecto beneficioso (antídoto) a un veneno letal.

### Capacidad antídota

La capacidad antídota se puede expresar formalmente como una **relación de potencia (RP)**.

$$RP = \frac{DL_{50} \text{ del } CN^- \text{ con } NO_2^-}{DL_{50} \text{ del } CN^- \text{ sin } NO_2^-}$$

Las RP calculadas para el caso anterior son: 3,0 para el cianuro; 2,3 para el sulfuro, y 1,2 para la azida.

Otro antídoto para el cianuro es el tiosulfato sódico, el cual tiene un mecanismo de acción completamente diferente al del nitrito. Las RP pueden usarse para evaluar cuán efectivos son los antagonistas cuando se dan conjuntamente o por separados. El nitrito presenta una RP para el cianuro de 2,6 en condiciones algo diferentes a las anteriormente descritas. Mientras que para el tiosulfato es de 4,0. La RP calculada cuando los dos compuestos se administran a la vez es de 6,1. Valor muy próximo a la suma aritmética de las RP de los dos antídotos dados solo. Dentro del error experimental se puede considerar que ambos antagonistas tienen efectos aditivos.

## *Cálculo de la toxicidad de mezclas*

- Hay varios posibles métodos para medir la toxicidad de una mezcla de dos polucionantes o tóxicos. El más simple se basa en el concepto de **unidad tóxica**.
- La unidad tóxica es un medio de expresar la cantidad (concentración) presente de una sustancia tóxica como una fracción de la **concentración letal umbral (CL<sub>u</sub>)**.
- Para cualquier sustancia, una unidad tóxica es igual a su **CL<sub>u</sub>**.
- Ocasionalmente, se usa una aproximación a la CL<sub>u</sub>, como puede ser la CL<sub>50</sub> a las 96 horas, pero sólo si se comprueba que este valor está próximo al de la CL<sub>u</sub>.

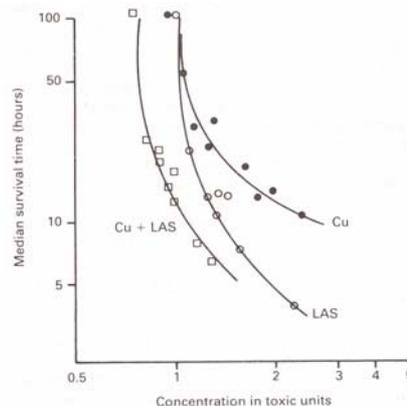
$$\text{Unidad tóxica} = \frac{\text{Concentración presente del tóxico}}{\text{Concentración letal umbral}}$$

Para realizar el ensayo de una mezcla de dos compuestos es necesario:

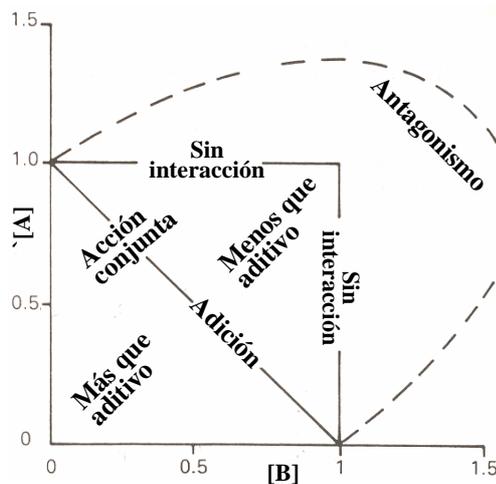
- 1°. Determinar la concentración letal umbral de cada uno de los tóxicos separadamente, bajo idénticas condiciones ambientales.
- 2°. Ensayar la respuesta del organismo de ensayo a una mezcla de los dos tóxicos, conteniendo cada uno la mitad de su unidad tóxica.

Ejemplo: CL<sub>50</sub> de tóxico A = 2 mg/l; CL<sub>50</sub> de tóxico B = 0,6 mg/l. La mezcla debe contener 1 2 mg/l de A y 0,3 2 mg/l de B. Esta mezcla debería matar a la mitad de los individuos si el efecto conjunto fuese simplemente aditivo; si mueren más de la mitad, el efecto será mayor que aditivo. Si mueren menos de la mitad, la mezcla es menos que aditiva.

Toxicidades del Cu, detergente LAS (alquil sulfonato lineal) y una mezcla de ambos para *Salmo gairdneri*. Las concentraciones están expresadas en unidades tóxicas. El efecto conjunto es más que aditivo.



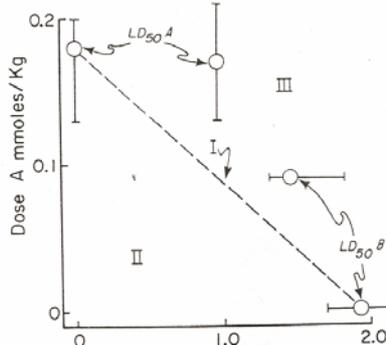
## Valoración de mezclas



Sprague, 1970, basada en el concepto de unidad tóxica. Si la respuesta es producida por combinación de los dos tóxicos representados por los puntos dentro del cuadrado. Si la combinación de ambos cae dentro de la diagonal ( $0,5A + 0,5B$ ) los efectos son *aditivos*. Si la respuesta es producida por combinación de ambos que cae en la zona inferior izquierda ( $0,5A + 0,2B$ ) el efecto es *más que aditivo*. Si corresponde a la zona superior derecha del triángulo ( $0,8A + 0,7B$ ), los tóxicos actúan conjuntamente pero su efecto global es *menos que aditivo*. Las combinaciones que se encuentran en la frontera del cuadrado no muestran interacción entre los tóxicos.

Si más de 1,0 unidad de A se requiere para producir el efecto, a causa de la presencia de B, tenemos antagonismo, con B antagonizando el efecto de A. la combinación caerá a la derecha del cuadrado.

## Isoblograma de la acción conjunta

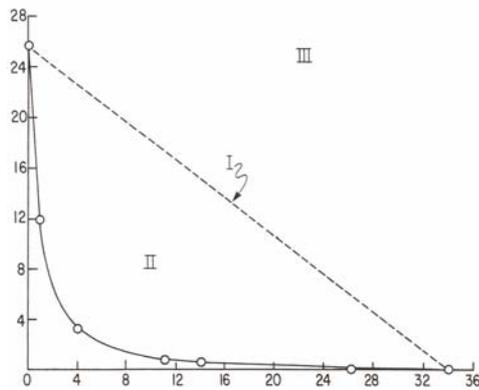


Se determinan las  $DL_{50}$  de las sustancias por separado. Se representan los datos obtenidos y se unen por una recta. Los puntos conectados por la línea recta corresponden a los valores de estricta aditividad de las toxicidades de las dos sustancias.

Se determina la toxicidad ( $DL_{50}$ ) de concentraciones variables de la sustancia A junta con una dosis constante mitad de la  $DL_{50}$  de B calculada anteriormente.

Se repite la determinación de la toxicidad pero intercambiando las dosis (dosis variables de B a concentración constante de A)

Los valores obtenidos se representan en el isoblograma. Si los puntos caen por debajo de la recta, en la región II, indicaría un efecto sinérgico de las dos sustancias, o mayor que aditivo. Cuando los puntos caen fuera del triángulo de potenciación y por encima de la recta de aditividad tenemos efectos antagonistas.



Un isoblograma que ilustra los efectos sinérgicos entre dos fármacos usados frente a la malaria.

### *Efectos aditivos*

- Dos tipos de efectos aditivos:
- **Acción independiente:** Los tóxicos actúan de manera independiente y cada uno tiene modos de acción diferentes. Ambos tienen distintos centros dianas.
  - La susceptibilidad a un compuesto puede correlacionarse con la susceptibilidad al otro compuesto.
  - La toxicidad de la mezcla se puede predecir de las curvas de dosis-mortalidad para cada uno de los constituyentes individuales y la correlación en susceptibilidad a los dos tóxicos solos.
- **Acción similar:** Los tóxicos producen efectos similares en el mismo centro de forma independiente, de forma que un componente puede ser sustituido por una proporción constante del otro.
  - Las variaciones en la susceptibilidad individual a los dos componentes están completamente correlacionadas o son paralelas.
  - Si las proporciones relativas de los dos componentes se conocen, se puede predecir directamente la toxicidad de la mezcla.

### *Acción similar simple*

Dos estímulos cuyos modos de acción sobre los organismos son muy parecidos muestran a menudo líneas de regresión paralelas de los probits frente al logaritmo de la concentración. Se da con compuestos con estructuras estrechamente relacionadas.

$$\begin{aligned} Y_1 &= a_1 + b \log z_1 \\ Y_2 &= a_2 + b \log z_2 \end{aligned}$$

La potencia del segundo compuesto respecto al primero es:

$$\log \rho = \frac{a_2 - a_1}{b}$$

Luego:

$$Y_2 = a_1 + b \log (\rho \cdot z_1)$$

Se dice que una mezcla que contenga cantidades  $z_1$  y  $z_2$  de las dos sustancias muestra acción similar simple si la respuesta a ella fuese igual a la que se obtendría con una dosis igual a  $(z_1 + \rho z_2)$  de la primera sustancia sola.

La acción similar simple requiere que para cualquier mezcla se tenga una respuesta probit del tipo:

$$Y = a_1 + b \log (z_1 + \rho \cdot z_2)$$

Cuando las sustancias se expresan en proporciones ( $\pi_1$  y  $\pi_2$ ), en lugar de concentraciones, tenemos:

$$Y = a_1 + b \log (\pi_1 + \rho \cdot \pi_2) + b \log z$$

$$z_1 + \rho \cdot z_2 = z(\pi_1 + \rho \cdot \pi_2)$$

Si  $CE_{50}^1$ ,  $CE_{50}^2$ ,  $CE_{50}^M$  son las dosis letales correspondientes

$$CE_{50}^2 = \frac{CE_{50}^1}{\rho} \qquad CE_{50}^M = \frac{CE_{50}^1}{(\pi_1 + \rho \cdot \pi_2)}$$