



DAWKI TOKSYCZNE, czyli skąd wiadomo, że to co jemy nas nie zabije?

Arkadiusz Dobosz

Specjalista ds. rozwoju i analityki rynku w Jagiellońskim Centrum Innowacji

DOSIS FACIT VENENUM

Prawie 500 lat temu żył pewien lekarz i przyrodnik imieniem Phillippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, znany szerzej jako Paracelsus. Jest on autorem słynnej sentencji:

*„Cóż jest trucizną? Wszystko jest trucizną i nic nie jest trucizną. Tylko dawka czyni, że dana substancja nie jest trucizną”
(łac. Dosis facit venenum)*

Dzisiaj to zdanie nadal jest aktualne i stanowi podstawę współczesnej toksykometrii.

Toksykometria jest działem toksykologii i zajmuje się określaniem zależności pomiędzy dawką substancji chemicznej a jej działaniem toksycznym na organizm. Należy zrozumieć, że absolutnie każda substancja może w odpowiednio wysokiej dawce spowodować zagrożenie zdrowia lub życia. Toksyčna może być więc woda, tlen, cukier, witaminy, kofeina a także nikotyna, jad kiełbasiany czy falloidyna (trucizna produkowana m.in. przez muchomora sromotnikowego). Podstawową różnicą pomiędzy substancjami uznawanymi za bezpieczne a tymi, o których mówimy że są toksyczne, to dawka, po której następuje zatrucie organizmu. Wprowadzenie do organizmu dowolnej substancji wiąże się z ryzykiem – będzie ono bardzo małe jeśli pijemy wodę, ale ogromne jeśli pomylimy muchomora sromotnikowego z niegroźnym gołąbkciem zielonkawym. Miarą tego ryzyka jest toksyczność, którą określa się dla wszystkich substancji dopuszczonych do spożycia.

TOKSYCZNOŚĆ OSTRA

Toksyczność ostra to niekorzystne efekty zdrowotne występujące **w krótkim czasie po podaniu** danej substancji drogą pokarmową **w pojedynczej dawce** lub w kilku dawkach w czasie 24 godzin. W niniejszym artykule pomijamy kwestię przyjmowania substancji toksycznych innymi drogami (np. drogą wziewną). Efekty ostrego zatrucia są kojarzone z klasycznymi objawami zatrucia, jakie znamy z filmów i książek. Ostłą toksyczność najczęściej opisuje się za pomocą parametru LD50 (median Lethal Dose).

LD50 to miara ostrej toksyczności i oznacza taką dawkę substancji, która zabija 50% badanej populacji. W codziennym życiu LD50 jest użyteczna do mierzenia toksyczności w kontekście wypadków, zabójstw lub samobójstw, ponieważ to w takich przypadkach organizm jest narażony na pojedyncze dawki toksyn i to na tyle wysokie, by stanowiły bezpośrednie zagrożenie dla życia.

LD50 wyznacza się empirycznie na myszach lub szczurach (rzadziej na psach), a w niektórych przypadkach, np. dla nikotyny, dostępne są także dane dla ludzi. W ramach ciekawostki oraz dla oswojenia się z ideą *dosis facit venenum*, warto przytoczyć przykładowe wartości LD50 dla szczurów:

- Woda – 9000 mg/kg masy ciała (6l dla przeciętnego człowieka)
- Etanol – 7000 mg/kg
- Glifosat (składnik RoundUp'u) – 5600 mg/kg
- Teobromina (alkaloid występujący w ziarnie kakaowca i w czekoladzie) – 950 mg/kg
- Kofeina – 190 mg/kg
- Witamina D3 – 37 mg/kg
- Nikotyna – 10 mg/kg
- Aflatoksyny (toksyny wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Aspergillus*, które rosną m.in. na zbożach) – 5 mg/kg
- Jad kiełbasiany – 0,001 mg/kg (wartość dla myszy)

Chociaż wartość LD50 bywa użyteczna, nie można polegać na niej bezgranicznie z kilku powodów:

1. Wyniki uzyskane w różnych eksperymentach mogą się różnić, dlatego w Internecie zapewne znajdziecie odmienne wartości od tych podanych powyżej. Jest to problem powtarzalności wyników.
2. Gatunki mogą znacznie różnić się odpornością na ten sam czynnik. Na przykład teobromina jest mniej więcej tak samo toksyczna dla szczura i dla człowieka (odpowiednio 950 i 1000 mg/kg masy ciała) ale dużo bardziej toksyczna dla psów (300 mg/kg). Ponieważ tabliczka czekolady zawiera zwykle mniej niż 300 mg teobrominy, człowiek nie jest w stanie się nią zatruć jedząc czekoladę – ale pies już tak.
3. Wyznaczanie LD50 wiąże się z zabijaniem zwierząt (w zależności od procedury trzeba poświęcić od kilku do kilkudziesięciu zwierzątek) co pociąga za sobą problemy etyczne.
4. LD50 nie uwzględnia wielu czynników, które mogą wpływać na tolerancję bądź podatność organizmu na truciznę takich jak stan zdrowia, czy nawet kondycja psychiczna.
5. Chyba najważniejsze – ekspozycja organizmu powodująca ostre zatrucia wymaga pewnego rodzaju ekstremalnych warunków (wypadek, celowe zatrucie), tymczasem typowa ekspozycja na jaką jesteśmy narażeni to długotrwałe przyjmowanie niewielkich dawek. Nieco wyolbrzymionym przykładem może być woda – raczej nikt nie wypija na raz 6 litrów (choć znane są takie przypadki, zakończone zgonami) ale przecież w mniejszej ilości pijemy ją codziennie. Tak samo jest z wieloma innymi substancjami. Aby lepiej odwzorować ryzyko związane z ciągłym narażeniem na substancje toksyczne, musimy jakoś oszacować toksyczność chroniczną.



TOKSYCZNOŚĆ CHRONICZNA

Warto mieć na uwadze, że toksyczność chroniczna związana z długotrwałym narażeniem na jakiś szkodliwy czynnik, rzadko prowadzi bezpośrednio do śmierci. Częściej pojawiają się natomiast nieletalne skutki uboczne takie jak choćby zwiększone ryzyko wystąpienia jakiejś choroby, bezpłodność, utrata masy ciała, czy zaburzenia układu odpornościowego. LD50 nie mówi nam niczego o nieletalnych skutkach ubocznych, dlatego do oszacowania długofalowych skutków przyjmowania różnych substancji posługujemy się miarami toksyczności chronicznej:

- **NOAEL** (*No Observable Adverse Effects Level*) – najwyższa dawka lub stężenie substancji, dla której nie obserwuje się działania niepożądanego w badanych organizmach
- **LOAEL** (*Lowest Observable Adverse Effects Level*) – analogicznie, jest to najniższa dawka lub stężenie substancji, która wywołuje widoczne efekty niepożądane

Wartości NOAEL i LOAEL służą następnie do określania limitów bezpieczeństwa dziennego spożycia rozmaitych substancji.

DOPUSZCZALNE DZIENNE SPOŻYCIE

W UE najczęściej posługujemy się dopuszczalnym dziennym spożyciem **ADI** (*Acceptable Daily Intake*). Jest to wskaźnik określający maksymalną ilość danej substancji w przeliczeniu na kilogram masy ciała, która może być spożywana **codziennie** z żywnością bez znacznych negatywnych skutków dla zdrowia **przez całe życie**. ADI jest określane dla większości dodatków do żywności, pozostałości pestycydów i leków weterynaryjnych. W UE oceną bezpieczeństwa substancji, które przyjmujemy z pożywieniem, zajmuje się EFSA – Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności. Wartość ADI jest najczęściej podawana w miligramach na kilogram masy ciała na 1 dobę (mg/kg/d) i dotyczy łącznego pobrania danej substancji różnymi drogami (z wodą, żywnością, powietrzem, kosmetykami, lekami). Dla pozostałości pestycydów i zanieczyszczeń żywności czasem stosuje się wskaźnik TDI – tolerowane dzienne spożycie, który co do zasady jest tożsamy z ADI.

Aby obliczyć ADI dla danej substancji w pierwszej kolejności musimy eksperymentalnie wyznaczyć NOAEL w długoterminowych badaniach toksykologicznych prowadzonych na zwierzętach (*in vivo*), zwykle na szczurach. Badania takie trwają zwykle od 3 tygodni do 2 lat. Czasem pomocniczo wykorzystuje się także dostępne dane toksykologiczne uzyskane w warunkach *in vitro* (na przykład z badań cytotoksyczności – takie analizy, chociaż w nieco innym kontekście, wykonuje Laboratorium Biologii Molekularnej Jagiellońskiego Centrum Innowacji). Następnie najniższą wartość NOAEL, jaką uzyskano w powtarzanych badaniach, dzieli się przez tzw. współczynniki niepewności (WN):

$$ADI = NOAEL / WN$$

Współczynniki niepewności są zależne od jakości dostępnych danych naukowych na temat toksyczności analizowanej substancji. Każdy współczynnik ma wartość 10. Współczynniki niepewności związane są z:

- Ekstrapolacją danych uzyskanych dla zwierząt na ludzi
- Zmiennością ludzkiej populacji – jeśli NOAEL oszacowano na podstawie badań epidemiologicznych na ludziach
- Ograniczonym czasem badania w porównaniu do czasu trwania ludzkiego życia
- Innymi ograniczeniami metody badawczej (np. stosowanie LOAEL gdy brakuje danych do określenia NOAEL)

Za każdy współczynnik mający znaczenie w prowadzonych badaniach NOAEL dzieli się przez 10. Na przykład, jeśli w różnych testach na szczurach uzyskano następujące wartości NOAEL dla substancji X:

- Badanie zaburzenia płodności: NOAEL = 50 mg/kg/d
- Badanie chronicznej toksyczności: NOAEL = 30 mg/kg/d
- Badanie karcenogenności: NOAEL = 10 mg/kg/d

to najniższą wartość NOAEL dzielimy przez 10 (ekstrapolacja danych ze zwierząt na ludzi) i jeszcze raz przez 10 (czas życia człowieka jest dłuższy od czasu życia szczura i od czasu trwania eksperymentu):

$$ADI = (10/100) \text{ mg/kg/d} = 0,1 \text{ mg/kg/d}$$

Taka wartość ADI oznacza, że człowiek o masie 75 kg może przyjmować codziennie, przez całe życie maksymalnie 7,5 mg substancji X ($75 \cdot 0,1 = 7,5$) bez znaczącego ryzyka wystąpienia długoterminowych skutków ubocznych. Zastosowanie współczynników niepewności daje nam dość duży margines błędu.



Dodatkowo, różne organizacje naukowe mogą stosować także współczynniki modyfikujące (WM), które odzwierciedlają dodatkowe zmienne związane z pomiarami, takie jak liczba przebadanych zwierząt. Tego typu zmienne są uwzględniane np. przy obliczaniu dawki referencyjnej RfD, którą stosuje amerykańska Agencja Ochrony Środowiska w odniesieniu do pestycydów:

$$RfD = NOAEL / (WN * WM)$$

RfD jest zdefiniowana praktycznie tak samo jak ADI, ale nie stosuje się jej do substancji rakotwórczych oraz substancji wchłanianych nie tylko z pożywienia ale także np. przez skórę (choćby z kosmetyków).

RYZIKO

Zaprezentowany wyżej schemat działania jest z konieczności uproszczony. Przedstawia jednak sedno metody, która służy do określania bezpieczeństwa wszelkich substancji, na które jesteśmy wyeksponowani w ciągu życia. Należy jednak pamiętać, że bezpieczeństwo i ryzyko to pojęcia względne. Wraz z rozwojem nauki i kolejnymi badaniami może okazać się, że ustalone wczoraj dawki uznane za bezpieczne, jutro mogą zostać uznane za ryzykowne i na odwrót. Wyznaczanie ADI jest tylko jednym z elementów większego procesu – oceny ryzyka. Ryzyka, którego niestety nie da się wyeliminować w stu procentach, a które towarzyszy każdej ludzkiej aktywności – od łykania witamin po BASE jumping. Sama toksyczność, zarówno ostra jak i toksyczna, nie wystarcza do bezpośredniego porównania ryzyka związanego z dwoma różnymi czynnikami. Ważne jest również oszacowanie faktycznego poziomu ekspozycji na jaki jesteśmy narażeni oraz „waga” reakcji ubocznych wywoływanych przez oba czynniki. Spójrzcie na poniższe zestawienie, czy jesteście w stanie powiedzieć, która substancja jest bardziej toksyczna?

LD50 dla glifosatu: 5600 mg/kg
LD50 dla kofeiny: 190 mg/kg

A teraz?

RfD glifosatu: 0,1 mg/kg/dzień
RfD kofeiny: 0,0025 mg/kg/dzień

Glifosat kojarzy się wielu ludziom bardzo źle, jest to w końcu herbicyd, składnik słynnego RoundUp'u produkowanego do niedawna przez jeszcze gorzej kojarzący się koncern Monsanto. I zgodnie z intuicją wielu ludzi, w testach toksyczności ostrej wypada prawie 30 razy gorzej od kofeiny. Jednak z badań toksyczności chronicznej wynika, że glifosat jest 40 razy bezpieczniejszy dla zdrowia od kofeiny!

Sytuacja skomplikuje się jeszcze bardziej, gdy przyjrzymy się codziennym ekspozycjom. Kawa może zawierać 50-300 mg kofeiny, w zależności od sposobu parzenia i wielkości naczynia. Osoba ważąca 75 kg i pijąca dwie słabe kawy dziennie, zawierające 50 mg kofeiny każda, przyjmuje więc ponad 50 tysięcy procent bezpiecznej dawki. Innymi słowy przekracza limit 500 razy.



Odpowiedź na nasuwające się od razu pytanie „dlaczego ludzkość jeszcze nie wyginęła” jest prosta – RfD dla kofeiny wyznaczono na podstawie LOAEL. A „widoczne efekty niepożądane” które wywołuje w swojej najmniejszej dawce kofeina to m.in. przyspieszenie metabolizmu, zmniejszenie uczucia zmęczenia fizycznego i pobudzenie umysłowe – to właśnie dla tych efektów w ogóle pijemy kawę. Istotna w tym przypadku była wspomniana wcześniej waga objawów, czyli sposób w jaki działa dana substancja na organizm.

Tymczasem ekspozycja na glifosat jest najwyższa u rolników, którzy go stosują i wynosi ok 0,1% RfD, czyli 1000 razy mniej niż dzienny limit. Ekspozycję badano m.in. analizując mocz rolników i ich rodzin przy pomocy technik HPLC-MS oraz GC-MS, które wykorzystywane są również w laboratoriach Jagiellońskiego Centrum Innowacji do analiz jakościowych i ilościowych.

Dlatego jeśli zapytacie jakiegoś naukowca co jest bardziej trujące: glifosat czy kofeina? X czy Y? Najpewniej usłyszycie odpowiedź: to zależy.

Obliczenia z ostatniego akapitu przeprowadziła dr Alison Bernstein i opublikowała w artykule Glyphosate Vs. Caffeine: Acute and Chronic Toxicity Assessments Explained. [dostęp: 31.10.2019]

LITERATURA

Dostęp do poniższych linków: 31.10.2019

- <https://www.efsa.europa.eu/>
- <http://www.foodlabel.org.uk>
- <https://thoughtscapism.com>
- <https://www.chemsafetypro.com/>
- https://www.chemsafetypro.com
- <https://www.chemsafetypro.com/>
- <https://www.chemsafetypro.com/>
- <https://www.chemsafetypro.com/>
- <http://fafdl.org/blog/>
- <https://www.epa.gov/>
- <https://www.chemsafetypro.com/>
- <https://www.chemsafetypro.com/>

Jagiellońskie Centrum Innowacji Sp. z o.o. – spółka powołana w 2004 r. przez Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, zarządzająca Life Science Parkiem, a także oferująca komplementarny zestaw usług dla przedsiębiorców i naukowców działających w obszarze nauk przyrodniczych. W ofercie JCI znajdują się m.in. wynajem specjalistycznych powierzchni laboratoryjnych, wsparcie kapitałowe dla innowacyjnych firm, usługi badań kontraktowych i badań klinicznych oraz linia do produkcji kosmetyków.

Więcej informacji na www.jci.pl

