

Osnovni principi izučavanja toksikologije smeša

Aleksandra Buha, Vesna Matović*

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović”, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

*Autor za korespondenciju: Vesna Matović, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, 11221 Beograd, Vojvode Stepe 450
e-mail: vevodi@pharmacy.bg.ac.rs
tel: +381 11 3951251

Kratak sadržaj

Većina toksikoloških studija i evaluacija rizika odnose se na pojedinačne hemikalije. Međutim, u realnom okruženju izloženi smo istovremeno velikom broju hemikalija, što ukazuje da bi pri proceni izloženosti i rizika trebalo posmatrati smeše, a ne samo pojedinačne hemikalije. Ovaj pregledni rad o toksikologiji hemijskih smeša pokriva više stavki, od osnovnih koncepata i terminologije zajedničkog dejstva i interakcija hemikalija do različitih modela za ispitivanje toksičnosti smeša. Literaturni podaci ukazuju na činjenicu da izloženost smešama koje sadrže niske nivoe hemikalija, nivoe koji su niži od njihovih doza bez štetnog efekta (No observed adverse effect level - NOAEL) vrednosti, može rezultirati toksičnim odgovorom bez obzira da li komponente smeše imaju ili ne sličan način dejstva. Dati su i različiti pristupi i primeri koncepata i modela procene toksičnosti prioritetnih smeša iz realnog života, strategija i smernice, kao i dalji izazovi.

Ključne reči: smeše, toksičnost, koncepti i modeli, interakcije komponenata

Uvod

Okruženi smo sa preko 50 miliona hemikalija, od kojih su neke prirodnog porekla a mnoge je čovek sintetisao ili izolovao iz različitih izvora kako bi sebi omogućio što bolji, savremeniji, udobniji život. Bez brojnih hemikalija ne bismo mogli ni da zamislimo opstanak, ali ne smemo zaboraviti da sve hemikalije nose sa sobom i negativne, neželjene a često i toksične efekte po čoveka i životnu sredinu. Svake godine se na zemaljskoj kugli zabeleži preko 15 miliona slučajeva trovanja, od čega preko 50% čine trovanja dece. Pri tome znamo da su upravo akutna trovanja, uz kardiovaskularne bolesti i karcinome, najčešći uzročnici smrtnosti na našoj planeti.

Poznato je da je čovek još od svojih prvih koraka shvatio da je okružen i supstancama koje mu mogu nauditi ali pri tome i pomoći u lovu i odbrani od neprijatelja. Nije znao, naravno, da objasni uzrok toksičnosti na primer kukute, ugljen monoksida, olova i drugih brojnih hemikalija, efekte koji one izazivaju u organizmu a još manje mehanizme njihovog dejstva na živi svet. Trebalo je da prođe mnogo godina da bi se stekla ta znanja, pa je tako danas toksikologija multidisciplinarna nauka koja je upravo zbog svoje obimnosti podeljena na niz grana, tj. disciplina. Danas posedujemo brojna znanja o efektima koje pojedine supstance izazivaju pri akutnom trovanju, tj. pri jednokratnoj izloženosti ali i pri hroničnoj izloženosti celog radnog ili životnog veka. Znamo neke od mehanizama toksičnosti, kao i činjenicu da čak i izloženost niskim dozama određenih hemikalija, posebno kroz duži vremenski period može toksično delovati na nervni sistem, endokrini sistem, a izvestan broj hemikalija može ispoljiti i genotoksični, mutageni efekat i dovesti do nastanka karcinoma.

Pa ipak, da li možemo biti zadovoljni svim ovim znanjima koja danas posedujemo? Možemo slobodno reći – ne, i to ne samo zato što je čovek beskrajno radoznao u svojim saznanjima i istraživanjima. Nama je cilj da svedemo rizik od hemikalija po zdravlje ljudi i životnu sredinu na minimum, tj. na prihvatljiv rizik. Međutim, procena toksičnosti i rizika koje hemikalije predstavljaju po zdravlje ljudi i životnu sredinu otežava i komplikuje činjenica da su ljudi u svakodnevnom životu izloženi kompleksnim smešama o čijim toksičnim efektima imamo nedovoljno podataka.

Evaluacija potencijalne opasnosti po zdravlje ljudi od izloženosti smešama različitih hemikalija predstavlja jedan od najvećih izazova u toksikologiji. Veliki broj supstanci se istovremeno nalazi u ekosistemima, lancima ishrane i ljudskom tkivu, uglavnom u niskim koncentracijama. Poznato je da se u organizmu svakog čoveka može detektovati oko 300 hemikalija, i da čak i nerođene bebe u svom organizmu imaju hemikalije poreklom iz majčinog organizma.

U naučnim krugovima toksikologije se već niz godina ukazuje na tzv. „koktel” hemikalija kojima je izložen živi svet, kao i na potrebu istraživanja da li istovremena

izloženost većem broju hemikalija, iako prisutnim u niskim dozama, može rezultirati rizikom po zdravlje ljudi i ekosisteme.

Podela smeša i međusobni efekti komponenata smeša

Postoje različiti oblici smeša i prema Agenciji za toksične supstance i registar bolesti (Agency for Toxic Substances and Disease Registry - ATSDR) možemo ih podeliti na smeše hemikalija koje se proizvode kao takve (različite formulacije pesticida, benzin, itd), smeše koje nastaju kao nusprodukti različitih procesa poput sagorevanja goriva, pušenja cigareta, i tzv. „slučajne” smeše koje se sastoje od hemikalija koje potiču iz različitih izvora (1).

Međutim, u literaturi se mogu naći i druge podele smeša. Tako već dugi niz godina koristimo i podelu na *jednostavne* i *složene (kompleksne)* smeše (2). *Jednostavne* smeše su one koje se sastoje od relativno malog broja hemikalija (najčešće manje od 10), pri čemu je njihov sastav poznat i kvalitativno i kvantitativno, a primeri takvih smeša su kokteli pesticida, grupa estara alil alkohola, kombinacije lekova. *Složene* smeše se definišu kao smeše koje sadrže desetine, stotine ili čak hiljade hemikalija, čiji sastav kvalitativno i kvantitativno nije u potpunosti poznat, a primeri su pijaća voda, pare koje nastaju pri zavarivanju, radna atmosfera, itd (2).

Smeše takođe možemo podeliti i prema načinu dejstva njenih komponenata, pa tako razlikujemo smeše čije komponente imaju sličan način dejstva i smeše čije komponente ispoljavaju različite mehanizme dejstva. Kao primer prve grupe možemo navesti polihlorovane dioksine i furane (PCDD/Fs) s obzirom na činjenicu da ove hemikalije reaguju sa istim ciljnim molekulama u organizmu, a može se pretpostaviti da će se postići isti efekat ukoliko jednu hemikaliju u ovakvim smešama zamenimo sa ekvivalentnom dozom druge, pa su još 1926. godine Loewe i Muischnek dali koncept adicije doza, odnosno koncentracija (3). Široku primenu ovog koncepta nalazimo u tzv. faktoru ekvivalenta toksičnosti (toxicity equivalence factor - TEF), konceptu koji se koristi u proceni rizika npr. PCDD/Fs, organofosfata. Ovaj koncept dozne aditivnosti ukazuje da svi toksični agensi, prisutni u smeši u bilo kojoj koncentraciji, doprinose ukupnoj toksičnosti smeše, čak ukoliko su prisutni i u koncentracijama koje su niže od njihovih NOAEL vrednosti, odnosno i pri dozama individualnih komponenata koje ne ispoljavaju toksične efekte. Za smeše sa različitim načinima dejstva komponenata se smatralo da je efekat smeše nezavisan od komponenata smeše, na osnovu čega se može izvesti zaključak da se toksični efekti takve smeše neće javiti sve dok doze pojedinačnih sastojaka ne prelaze njihove NOAEL vrednosti (4). Međutim, literaturni podaci ukazuju da ovakav pristup ima nedostataka, odnosno ukazuju na činjenicu da izloženost smešama koje sadrže niske nivoe hemikalija, nivoe koji su niži od njihovih NOAEL vrednosti, može rezultirati toksičnim odgovorom bez obzira da li komponente imaju ili ne sličan način dejstva, odnosno empirijsko iskustvo ne može podržati pristup da su

smeše supstanci koje ne ispoljavaju sličan efekat a prisutne su u nivoima ispod njihovih NOAEL vrednosti, bezbedne (5). Tako je na primer u studiji ispitivanja toksičnih efekata smeše od 33 hemikalije koje se mogu podeliti u 3 grupe prema načinu dejstva, zaključeno da je smeša izazvala 50% smrtnosti riba iako su komponente bile u koncentracijama ispod koncentracija bez efekta (No observed effect concentration - NOEC) (6). U to vreme, pre 30 godina, dobijeni rezultat je doveden u sumnju, tj. postavilo se pitanje tačnosti prethodno određenih NOEC vrednosti, ali su kasnija ispitivanja opovrgla ovu sumnju. U ispitivanju proliferacije ćelija korišćenjem humanih MCF-7 ćelija kancera dojke, Payne i sar. (7) su pokazali da smeša 2 agonista estrogenih receptora (dihlor-difenil-trihloretan - DDT i heksahlorcikloheksan) prisutnih u koncentracijama koje odgovaraju 25-100% njihovih pojedinačnih NOEC vrednosti, ispoljava toksičnost. Na isti zaključak ukazuju i ispitivanja Walter i sar. (8) koji su utvrdili efekat smeše 11 zagađivača prethodno dokazanih da izazivaju reproduktivnu toksičnost algi. Primenjeni zajedno, u niskim koncentracijama koje su pojedinačno ispoljavale do 1% efekta, izazvale su zajednički efekat od 64%.

Pored ove dve grupe smeša, smeša komponenata sa sličnim dejstvom i dejstvom komponenata koje nije slično, već pre nekih 50 godina, pioniri u istraživanju smeša (9,10) uvode kao treću kategoriju *interakcije*, koje su definisane kao svi oblici zajedničkog efekta koji odstupaju od prethodno opisana dva, tj. ukazuju na kombinovano dejstvo dve hemikalije koje može biti jače (sinergizam, potenciranje, supra-aditivnost) ili slabije (antagonizam, inhibicija, sub-aditivnost, infra-aditivnost) u odnosu na efekat aditivnosti. Ono sa čime se sigurno možemo složiti je da u organizmu komponente u smeši mogu delovati nezavisno jedna od druge odnosno bez uticaja jedna na drugu, pri čemu se njihove doze ili efekti adiraju, i da sa druge strane, komponente smeše mogu intereagovati, a mogući mehanizmi nastanka interakcija podrazumevaju hemijske, toksikokinetičke i toksikodinamske interakcije. Tabela I daje prikaz terminologije koja se najčešće koristi u studijama toksičnosti smeša (11).

Tabela I Terminologija koja se koriste u ispitivanju međusobnih uticaja hemikalija u smeši.

Table I Terminology used in joint action investigation of chemicals in mixture

Pojam	Definicija
Interakcije	Efekat smeše je različit od aditivnosti bazirano na uspostavljenom doza-odgovor odnosu pojedinačnih komponentata smeše.
Aditivnost	Efekat smeše se može proceniti na osnovu zbira nivoa izloženosti ili efekata pojedinačnih komponentata smeše.
Bez očiglednog uticaja	Kada komponenta smeše koja ne ispoljava toksične efekte na određeni sistem organa nema uticaja na toksičnost druge komponente na taj sistem organa.
Sinergizam	Efekat smeše je veći nego što se procenjuje za aditivnost na bazi toksičnosti pojedinačnih komponentata smeše.
Potencijacija	Kada komponenta smeše koja ne ispoljava toksične efekte na određeni sistem organa pojačava toksičnost druge komponente smeše na taj sistem organa.
Antagonizam	Efekat smeše je manji nego što se procenjuje za aditivnost na bazi toksičnosti pojedinačnih komponentata smeše.
Inhibicija	Kada komponenta smeše koja ne ispoljava toksične efekte na određeni sistem organa smanjuje toksičnost druge komponente smeše na taj sistem organa.
Maskiranje	Kada komponenta smeše ima suprotne ili kompetitivne efekte u odnosu na drugu komponentu smeše na istom sistemu organa, pri čemu komponente smanjuju jedna drugoj efekat, ili pak jedna komponenta nadjačava efekat druge.

Različiti pristupi i ograničenja pri ispitivanju toksičnosti smeša

Postoje dva osnovna pristupa u istraživanju smeša. Pristup „istraživanja celih smeša” u kojem se istražuju kompleksne smeše kao celine, dok se efekti pojedinačnih komponentata prisutnih u smešama ne razmatraju. Ovaj pristup koristan je za istraživanje specifičnih smeša, ali ne daje uvid u to kako pojedinačne komponente doprinose ukupnom efektu smeša. Da bi se razumeo doprinos pojedinačnih komponentata smeše ukupnom efektu smeše treba primeniti pristup koji se bazira na analizi komponentata, odnosno pristup kojim se predviđa efekat smeše na bazi znanja o efektima hemikalija koje ulaze u sastav smeše, pri čemu je neophodno odgovoriti na sledeća pitanja: 1. Da li je moguće predvideti efekte smeša na bazi podataka o

toksičnosti pojedinačnih komponenata smeše? 2. Može li se očekivati rizik pri ekspoziciji većem broju hemikalija prisutnih u niskim dozama? 3. Kolike su šanse da će hemikalije reagovati jedna sa drugom dovodeći do sinergizma i koji su to faktori koji determinišu potencijal za sinergističke interakcije itd.?

Tokom poslednjih decenija, predloženo je više modela za procenu toksičnosti smeša, i to od tradicionalnih metoda ispitivanja pa do sofisticiranih, fiziološki-zasnovanih toksikokinetičkih modela, izoblograma ili analize doza/odgovor površine, celokupne ili frakcione faktorske analize, itd (3). Sve one imaju prednosti ali i nedostatke i ograničenja.

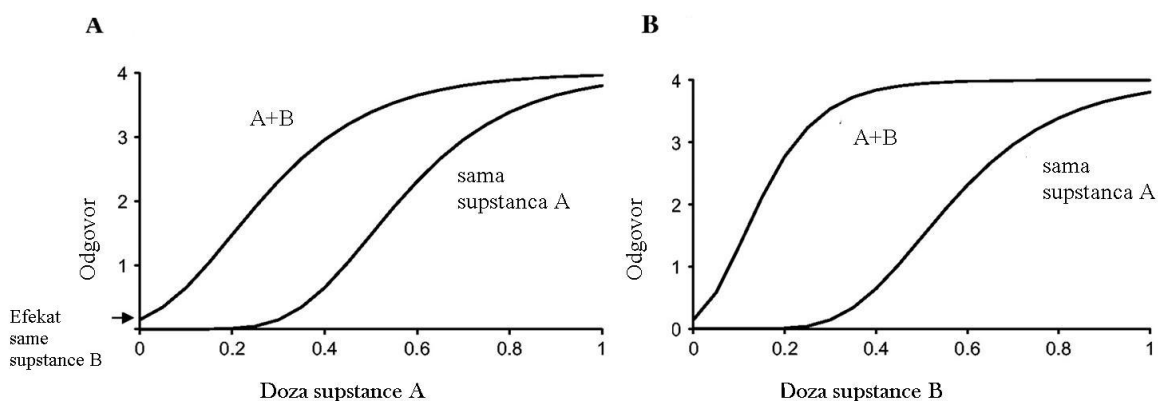
Za procenu toksičnosti i ekotoksičnosti pri izloženosti smešama različitih supstanci koje ne utiču jedna na drugu, odnosno ne stupaju u interakcije u osnovi se mogu primeniti dva pristupa: „suma doza/koncentracija” i „suma odgovora/efekata” (1). Pristup „suma doza/koncentracija” može dati pouzdanu procenu kombinovanih efekata komponenata koje imaju sličan mehanizam delovanja, a nemaju uticaj jedna na drugu na mestu efekta. Ovaj proces zasniva se na adiciji doza, odnosno koncentracija komponenata smeše, pri čemu se u obzir uzima njihova različita potentnost korišćenjem faktora relativne toksičnosti. Ovaj princip pretpostavlja da svaka hemikalija prisutna u smeši, bez obzira na to u koliko maloj količini, doprinosi ukupnoj toksičnosti smeše. Pristup „suma odgovora/efekata” koristi se ukoliko hemikalije komponente smeše deluju različitim mehanizmima toksičnosti ne utičući jedna na drugu. Treba istaći da prema ovom pristupu procene toksičnosti smeša, komponente koje su u smeši prisutne u dozama koje ne daju efekte ne doprinose ukupnoj toksičnosti smeše. Međutim, ove dve metodologije mogu dovesti do različitih procenjenih rizika za istu smešu, što može biti problem kada nije potpuno jasno za koji koncept se treba opredeliti. Osim toga, primena koncepta aditivnosti u potpunosti zanemaruje javljanje interakcija među hemikalijama u smeši, mogućnost razvijanja jačih, odnosno slabijih efekata od očekivanih na bazi adicije doza ili odgovora, kao i mogućnost razvijanja efekata koje pojedinačne komponente ne bi ispoljile. Stoga je razvijen objedinjen koncept koji je u skladu sa obe predložene forme aditivnosti, a u obzir uzima i mogućnost nastanka interakcija između komponenata smeše. Ovaj koncept koristi statistički model koji se bazira na osnovnoj definiciji aditivnosti koju je dao Berenbaum (12). Prema ovoj definiciji:

$$\sum x_i/E_i=1, \text{ gde } i \text{ ima vrednosti od } 1 \text{ do } c$$

u kombinaciji c hemikalija, E_i predstavlja koncentraciju/dozu i-te komponente koja dovodi do fiksnog odgovora, dok x_i predstavlja koncentraciju/dozu i-te komponente u kombinaciji sa c hemikalijama koja daje isti takav odgovor. Prema tome, ako je leva strana jednaka 1, supstance ne stupaju u interakcije, ukoliko je <1 radi se o

odgovoru koji je veći od aditivnog odnosno o sinergizmu, a ako je >1 u pitanju je odgovor manji od aditivnog odnosno radi se o antagonizmu.

Postoje brojne mogućnosti statističke obrade podataka pri proceni interakcija između komponenata smeše koje podrazumevaju faktorsku analizu, doza - efekat analizu površine i statističke metode za testiranje odstupanja od aditivnosti (3,13). Statistički modeli za testiranje odstupanja od aditivnosti korisni su u detekciji i karakterizaciji interakcija između komponenata smeše, a baziraju se na osnovnom konceptu da interakcije između komponenata smeše dovode do promena u nagibu krive doza - odgovor jedne komponente u prisustvu druge (13). Ovaj koncept zasniva se na pretpostavci da ukoliko postoje interakcije između komponenata smeše, nagib krive odnosa doza - odgovor hemikalije se menja u prisustvu jedne ili više drugih hemikalija komponenata smeše. Obrnuto, ako se nagib krive doza odgovor ne menja u prisustvu druge supstance onda hemikalije ne intereaguju tj. kombinuju se aditivno (13,14). Grafički prikaz ovog koncepta dat je na Slici 1.



Slika 1. A. Odsustvo promena u nagibu između krive doza-odgovor za supstancu A i krive doza-odgovor za supstancu A u prisustvu jedne doze supstance B ukazuje na odsustvo interakcija. B. Promena u nagibu između krive doza-odgovor za supstancu A i krive doza-odgovor za supstancu A u prisustvu jedne doze supstance B ukazuje na interakcije između supstanci A i B.

Figure 1. A. No slope change between dose-response curve for substance A and dose-response curve for substance A in the presence of one dose of substance B indicate no interaction. B. Change of slope between dose-response curve for substance A and dose-response curve for substance A in the presence of one dose of substance B indicate interaction.

Pored činjenice da svaki od modela za procenu toksičnosti smeše ima i svoja ograničenja, još jedan problem vezan za ispitivanje toksičnosti smeša je činjenica da se većina studija toksičnosti smeše bavi ispitivanjima toksičnosti visokih doza smeše koje sadrže nekoliko komponenti, dok je većina stvarnih izloženosti ljudi u životnoj sredini zapravo izloženost smešama koje sadrže brojne komponente, ali u niskim koncentracijama. Stoga se prilikom ekstrapolacije podataka dobijenih u takvim studijama javljaju izvesne nesigurnosti, a dodatni problem predstavlja činjenica da i odabir doza i koncentracija komponenata smeše može imati uticaj na potencijalne interakcije između komponenata smeša, pa samim tim i na njenu toksičnost. Na osnovu dostupnih literaturnih podataka može se čak zaključiti da se značajne toksične interakcije između komponenata smeše mogu očekivati u dozama koje su ispod doza koje daju efekte kada se radi o pojedinačnim supstancama, čak i više nego pri visokim dozama (15).

Pitanje toksikološke procene rizika smeša postaje posebno kompleksno ukoliko želimo da izvršimo realnu projekciju izloženosti, s obzirom na činjenicu da su i ljudi, ali i ostali organizmi, izloženi multi-komponentnim smešama hemikalija prisutnih u našem okruženju - vodi, vazduhu, zemljištu, hrani i različitim predmetima opšte upotrebe. Problem postaje još složeniji ukoliko su to smeše koje nemaju u potpunosti definisan sastav, što je u realnom životu čest slučaj.

Aktuelna istraživanja u oblasti toksikologije smeše

Toksičnost smeše jedna je od velikih nepoznanica toksikologije, posebno ukoliko se u obzir uzme činjenica da su istraživanja ukazala na prisustvo velikog broja hemikalija u našem organizmu. Tako je 2009. godine Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) objavio četvrti nacionalni izveštaj o izloženosti hemikalijama iz životne sredine (16) koji predstavlja najdetaljniju procenu izloženosti populacije SAD hemikalijama iz životne sredine. Tom prilikom utvrđeno je prisustvo 212 hemikalija u ljudskoj krvi ili urinu među kojima su se nalazila brojna organohlorna jedinjenja i toksični metali. Naravno, sama detekcija ovih supstanci u organizmu ne znači nužno da će ove hemikalije u organizmu dovesti do toksičnih efekata, ali ovi podaci daju još jednu potvrdu značaja toksikološkog istraživanja „koktel efekta” prisutnih smeša u našem organizmu.

Do sada su istraživanja toksikologije smeša uglavnom obuhvatila grupe jedinjenja kao što su toksični metali, organski rastvarači, perzistentni organski zagađivači, pesticidi, te su predloženi i profili interakcija sledećih smeša: arsen, kadmijum, hrom, olovo; benzen, toluen, etilbenzen, ksilen; olovo, mangan, cink, bakar; perzistentne hemikalije prisutne u mleku dojilja; perzistentne hemikalije u ribama; trihloretilen, dihloretan i tetrahloretilen; cezijum, kobalt, polihlorovani bifenili, stroncijum, trihloretilen; arsen, hidrazini, mlazno gorivo, stroncijum-90, uranijum; atrazin,

deetiltrazin, diazinon, nitrati, simazin; hlorspirifos, olovo, živa, metil-živa. Toksičnost navedenih smeša je razmatrana na osnovu literaturnih podataka o toksičnosti pojedinih komponenata smeše, kao i različitih kombinacija komponenata smeše, smeše su definisane na osnovu njihovog toksikološkog značaja koji je ocenjen kao prioritetan (17).

U novijoj literaturi se može naći i određen broj radova koji se bave ispitivanjem dvokomponentnih smeša, i to ispitivanjem toksičnosti smeša koje sadrže dva predstavnika jedne grupe hemikalija, kao što su na primer metali (18,19), ali i ispitivanja smeša koje sadrže komponente različitih toksikokinetičkih i toksikodinamičkih osobina, često sa ciljem definisanja međusobnih efekata komponenata, prisustva i tipa interakcija među komponentama na mestima toksičnog dejstva smeša (20,21,22,23).

Smernice u oblasti toksikologije smeša

Imajući u vidu značaj toksikologije smeša, brojne međunarodne organizacije razvijaju smernice i okvire za procenu rizika od smeša. Tako, ATSDR kao i druge relevantne organizacije poput Agencije za zaštitu životne sredine (Environmental Protection Agency - EPA), Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu (National Institute of Occupational Safety and Health - NIOSH) razvijaju različite kriterijume, vodiče ili regulativu u ovoj oblasti. Evropska komisija je 2009. godine dala pregled naučnog i regulatornog stanovišta o toksikologiji smeša i preporuke o potrebnim aktivnostima za dalja istraživanja u ovoj oblasti u svom Izveštaju o toksičnosti smeša (State of the Art Report on Mixture Toxicity) (24). Na značaj problematike toksikologije smeša ukazuju i aktivnosti Svetske zdravstvene organizacije koja je 2007. godine u saradnji sa Internacionalnim programom o bezbednosti hemikalija (International Program on Chemical Safety) organizovala konferenciju čiji je cilj bio da analizira trenutno stanje u ovoj oblasti i predloži dalje korake. Izveštaj sa ovog sastanka sadržao je detaljan predlog smernica koje se i danas koriste u ovoj oblasti (25). Ove smernice su podržale i druge relevantne organizacije, kao što su Organizacija za ekonomsku saradnju i razvoj (The Organisation for Economic Co-operation and Development - OECD) i Naučni institut za ispitivanje zdravlja ljudi i životne sredine (Health and Environmental Science Institute - HESI). Okvir se bazira na hijerarhijskom pristupu koji uključuje razmatranje hazarda i ekspozicije u više različitih nivoa, pri čemu je svaki sledeći nivo „prefinjeniji” odnosno sigurniji ali zahteva više rada i više dostupnih podataka, a postavljeni okviri testirani su i donekle revidirani u istraživanjima koja su usledila (26).

Iako je poslednjih decenija uložena ogroman napor značajnih organizacija ali i pojedinaca u okviru toksikologije da se odgovori na pitanje da li istovremena izloženost niskim dozama različitih hemikalija predstavlja rizik po ljudsko zdravlje i životnu

okolinu, na mnoga pitanja tek treba dati odgovor. Sigurno je da ne možemo očekivati da se ispituju sve smeše kojima smo okruženi, imajući u vidu beskrajne kombinacije i to različitih doza 50 miliona hemikalija kojima smo okruženi. Pa ipak moramo naći način da bar delimično odgovorimo koliki toksikološki i ekotoksikološki rizik nose smeše iz našeg okruženja: kozmetički proizvodi, sredstva za zaštitu bilja, hemikalije koje se emituju pri različitim procesima proizvodnje, transporta, reciklaže, spaljivanja ili nekog drugog postupka uništavanja, ali i brojnih hemikalija koje se nalaze u vodi, vazduhu, zemljištu, hrani, bioti i humanom tkivu kao rezultat emisije iz različitih izvora.

Zahvalnica

Rad je delimično finansiran od strane Ministarstva za obrazovanje, nauku i tehnološki razvoj, broj projekta III46009.

Literatura

1. ATSDR. Assessment of Joint Toxic Action of Chemical Mixtures. Agency Toxic Subst. Dis. Regist. 2004.
2. Feron VJ, Groten JP, van Bladeren, PJ. Exposure of humans to complex chemical mixtures: Hazard identification and risk assessment. Arch Toxicol Suppl. 1998; 20, 363-373.
3. Feron VJ, Groten JP. Toxicological evaluation of chemical mixtures. Food Chem Toxicol. 2002; 40, 825-839.
4. COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment). Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances. London, UK. 2002.
5. Kortenkamp A, Faust M, Scholze M, Backhaus T. Low-level exposure to multiple chemicals: Reason for human health concerns? Environ Health Perspect. 2007; 115, 106–114.
6. Hermens J, Leeuwang P, Musch A. Joint toxicity of mixtures of groups of organic pollutants to the guppy (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicol Environ Saf. 1985, 9, 321-326.
7. Payne J, Scholze M, Kortenkamp A. Mixtures of four organochlorines enhance human breast cancer cell proliferation. Environ Health Perspect. 2001, 109, 391-397.
8. Walter H, Consolaro F, Gramatica P, Scholze M, Altenburger R. Mixture toxicity of priority pollutants at no observed effect concentrations (NOECs). Ecotoxicology 2002, 11, 299-310.
9. Bliss CI. The toxicity of of poisons applied jointly. Ann Appl Biol 1939, 26, 585-615.
10. Plackett RL, Hewlett PS. Statistical aspects of the independent joint action of poisons, particularly insecticides. Annals of Applied Biology 1948, 35, 347-358.

11. Hertzberg RC, MacDonell MM. Synergy and other ineffective mixture risk definitions. *Sci Total Environ.* 2002; 288(1-2), 31-42.
12. Berenbaum MC. The expected effect of a combination of agents: the general solution. *J Theor Biol.* 1985; 114, 413–431.
13. Teuschler L, Klaunig J, Carney E, Chambers J, Conolly R, Gennings C, et al. Support of science-based decisions concerning the evaluation of the toxicology of mixtures: A new beginning. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2002; 36, 34–39.
14. Gennings C, Carter WH, Carchman RA, Teuschler LK, Simmons JE, Carney EW. A unifying concept for assessing toxicological interactions: Changes in slope. *Toxicol Sci.* 2005; 88, 287–297.
15. EFSA European Food Safety Authority. International Framework Dealing with Human Risk Assessment of Combined Exposure to Multiple Chemicals. *EFSA Journal.* 2013; 11(7), 3313.
16. CDC Centers for Disease Control and Prevention, Department of Health and Human Services, Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. CDC, Atlanta, SAD. 2009.
17. ATSDR - Interaction Profiles for Toxic Substances [WWW Document], n.d. URL <http://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/index.asp> (accessed 27.11.15).
18. Matović V, Buha A, Đukic-Ćosic D, Bulat, Z. Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys. *Food Chem Toxicol.* 2015, 78: 130-140.
19. Liu Y, Vijver MG, Peijnenburg WJ. Comparing three approaches in extending biotic ligand models to predict the toxicity of binary metal mixtures (Cu–Ni, Cu–Zn and Cu–Ag) to lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Chemosphere* 2014, 112, 282-288.
20. Buha A, Antonijević B, Bulat Z, Jačević V, Milovanović V, Matović V. The impact of prolonged cadmium exposure and co-exposure with polychlorinated biphenyls on thyroid function in rats. *Toxicol Lett.* 2013; 221: 83-90.
21. Ćurčić M, Janković S, Jačević V, Stanković S, Vučinić S, Durgo K, Bulat Z., Antonijević B. Combined effects of cadmium and decabrominated diphenyl ether on thyroid hormones in rats. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2012, 63, 255–262.
22. Zhu B, Wang Q, Wang X, Zhou B. Impact of co-exposure with lead and decabromodiphenyl ether (BDE-209) on thyroid function in zebrafish larvae. *Aquat Toxicol.* 2014, 157, 186–195.
23. Chen L, Zhang W, Zhang R, Lin K, He L, Wu L. The bioavailability and adverse impacts of lead and decabromodiphenyl ether on soil microbial activities. *Environ Sci Pollut Res.* 2015, 1-9.
24. EC European Commission, 2009. State of the Art Report on Mixture Toxicity. European Union.
25. International Programme on Chemical Safety. Assessment of combined exposures to multiple chemicals: report of a WHO/IPCS international workshop on aggregate/cumulative risk assessment. WHO 2009.
26. Meek ME, Boobis AR, Crofton KM, Heinemeyer G, Raaij MV, Vickers C. Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework, *Regul Toxicol Pharmacol.* 2011; 60, 1-14.

Basic principles of toxicological evaluation of mixtures

Aleksandra Buha , Vesna Matović*

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Toxicology „Akademik Danilo Soldatović”, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

*Author for correspondence: Vesna Matović, University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, 11221 Belgrade, Vojvode Stepe 450
e-mail: vevodi@pharmacy.bg.ac.rs
tel: +381 11 3951251

Summary

The vast majority of toxicity studies and risk assessments deals with single chemicals. In reality, however, humans are exposed simultaneously to a large number of chemicals, indicating that exposure assessment and safety evaluation should focus on mixtures rather than on single chemicals. This review on the toxicology of chemical mixtures covers widely varying issues, ranging from the basic concepts and terminology of joint action and interaction of chemicals to different designs for studying the toxicity of mixtures. Literature data indicate that exposure to mixtures which contain low levels of chemicals, levels lower than their no observed adverse effect levels (NOAELs), can exert toxic effects whether their components have similar modes of action or not. Different approaches and examples of studies on priority real-life mixtures, strategy and guidelines for mixture risk assessment as well as challenges ahead are also presented.

Key words: mixtures, toxicity, concepts and models, interactions of components
