

Relazione dose effetto





No drug is 100% safe
for all people in all
circumstances

Determinazione della relazione dose-effetto

Obiettivo degli studi di tossicità animali è determinare la relazione dose-effetto cioè la relazione tra le caratteristiche dell'esposizione e lo spettro degli effetti tossici.

A quale concentrazione si osserva l'effetto ?

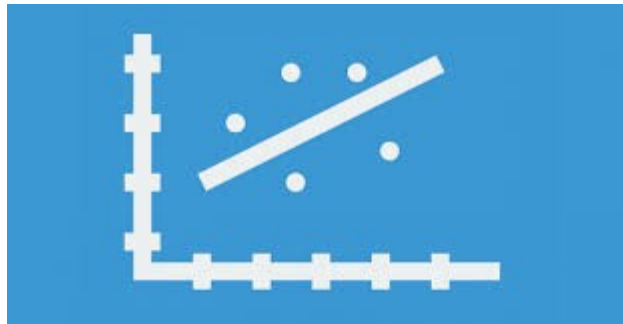
Il livello 'efficace' si raggiunge attraverso:

- Una singola esposizione (acuta e generalmente elevata) incidenti, avvelenamenti
- Esposizioni prolungate (basse dosi ripetute nel tempo non tossiche singolarmente effetti cumulativi)

Dose

Determines Whether a Chemical Will Be Beneficial or Poisonous

	Beneficial Dose	Toxic Dose
Aspirin	300 – 1,000 mg	1,000 – 30,000 mg
Vitamin A	5000 units/day	50,000 units/day
Oxygen	20% (Air)	50 – 80% (Air)



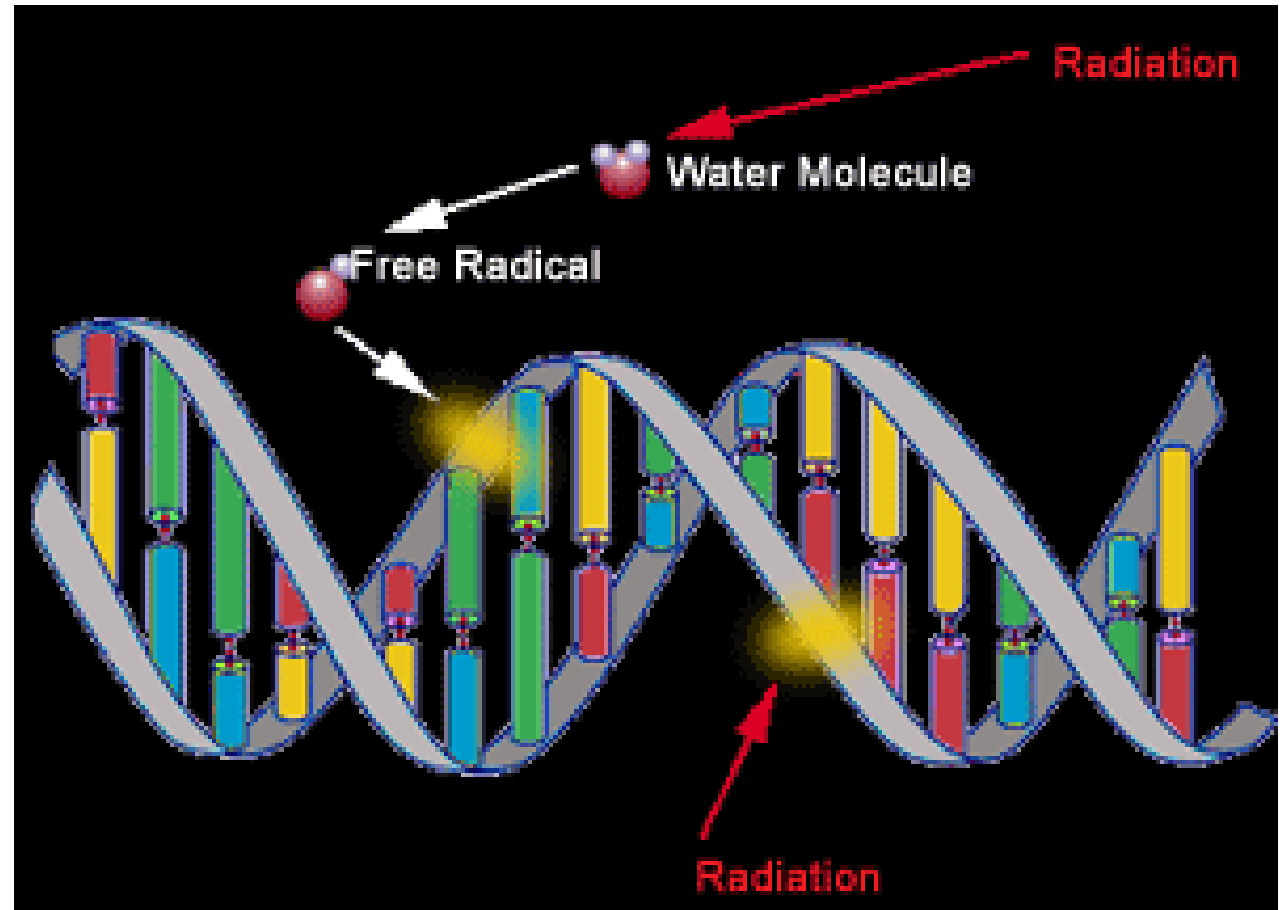
Dose



All Interactions
between
chemicals and
biological
systems follow
a
Dose-
Response
Relationship

Dose-Response Relationship

- A key concept in Toxicology is the **quantitative relationship** between the **concentration** of a xenobiotic in the body and the **magnitude** of the biological effect it produces.
- The magnitude of the effect of a xenobiotic is usually a function of the amount of xenobiotic to which a person is exposed (i.e., “The Dose Makes the Poison”).
- In any given population, there will be a **range of sensitivities** to a xenobiotic. It is extremely useful to know what is the average sensitivity of a population to a xenobiotic, and what the average dose required to elicit a toxic response will be.



Non dobbiamo mai dimenticare che

.....

- “Tutte le sostanze sono dei veleni; non ne esiste una che non sia un veleno. La giusta dose differenzia un veleno da un rimedio”



“E’ la dose che fa il veleno”

- Paracelsus 1493-1541

DEFINIZIONI

La tossicità di una sostanza viene espressa in base alle dosi che sono in grado di determinare un effetto indesiderato nell'animale

DMT (Dose Massima Tollerata): è definita anche "dose soglia" ed è la più alta dose che non induce alcun effetto, diretto o indiretto

MDT (Minima Dose Tossica): è la più bassa dose in grado di determinare un effetto tossico, ma non letale

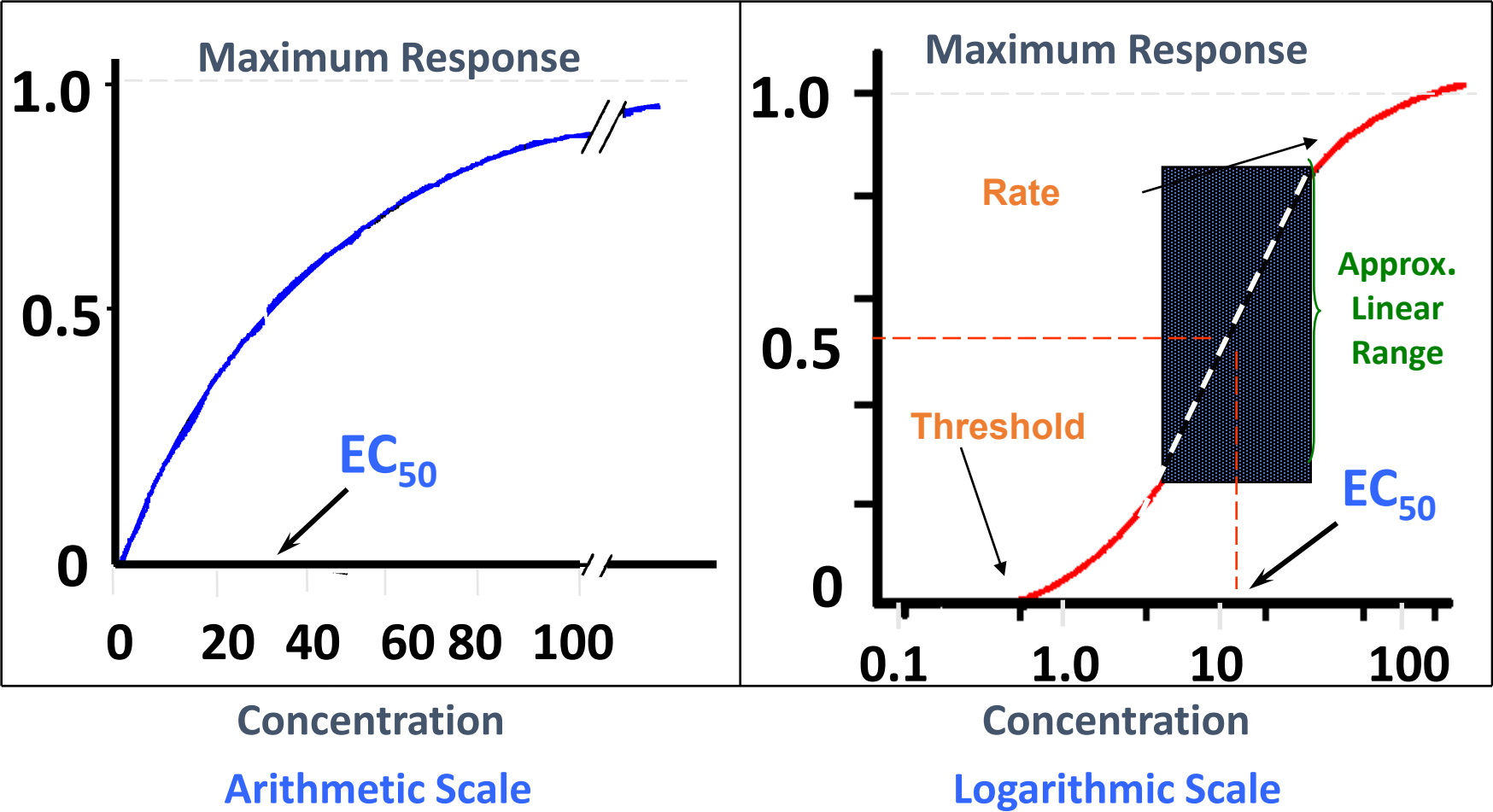
DL (Dose Letale): è la dose in grado di determinare la morte dell'animale, per convenzione, entro 24 ore dall'esposizione

PROBABILE DL50 PER OS NELL'UOMO

SOSTANZA	DL50 (mg/kg)	DEFINIZIONE
		Praticamente non tossiche (> 15 g/kg)
➤ Alcool etilico	10000	Leggermente tossiche (5-15 g/kg)
➤ Cloruro di sodio	4000	Moderatamente tossiche (0.5-5 g/kg)
➤ Fenobarbital	150	Altamente tossiche (50-500 mg/kg)
➤ Parathion	7	Estremamente tossiche (5-50 mg/kg)
		Super tossiche (< 5 mg/kg)
➤ Stricnina	2	
➤ Nicotina	1	
➤ D-tubocurarina	0.05	
➤ Tetrodotossina	0.01	
➤ TCDD	0.001	
➤ Tossina botulinica	0.00001	

Dose-Response Curves

“The Dose Makes the Poison”



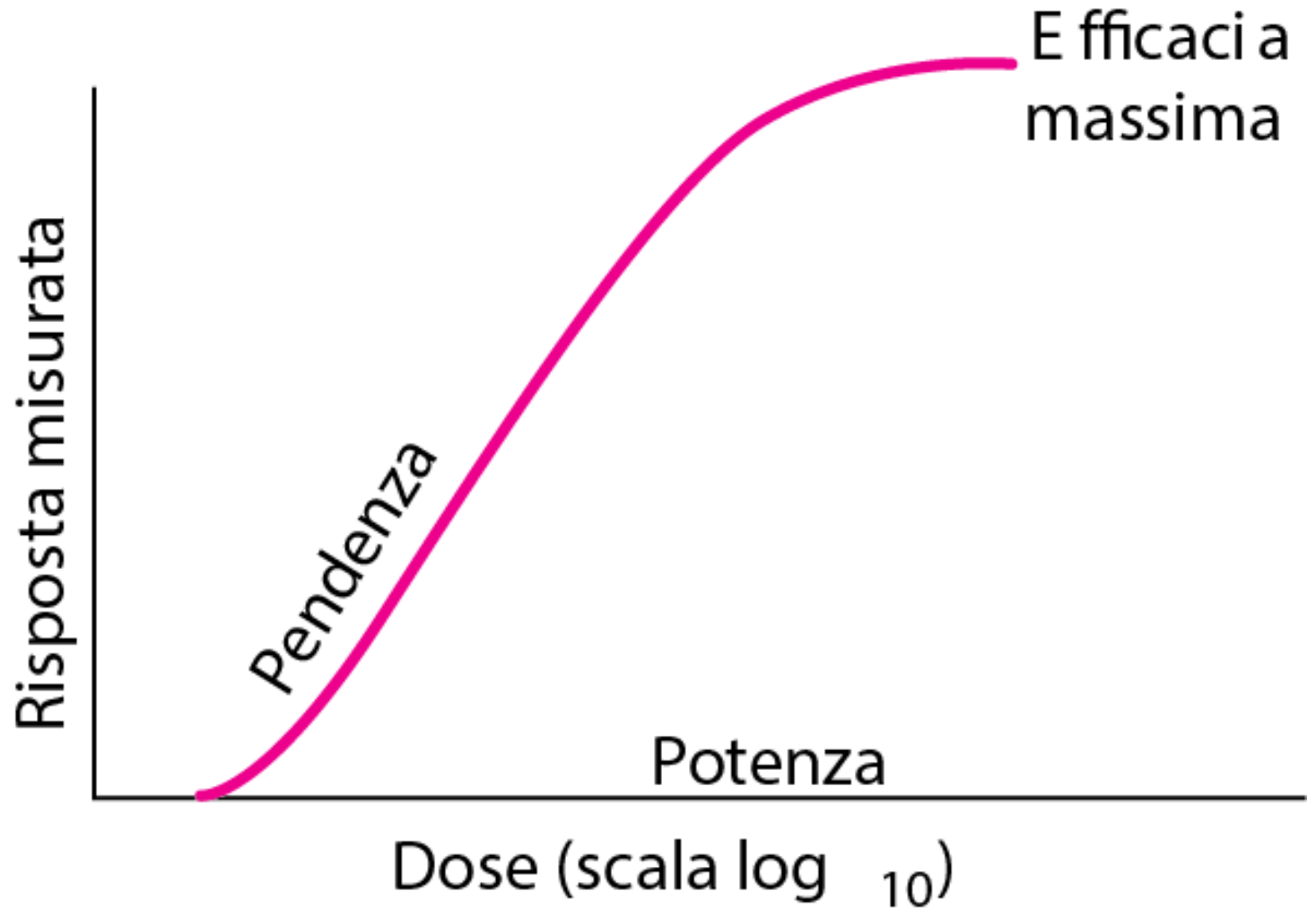
DL50 (Dose Letale 50): è la dose in grado di provocare la morte nel 50% degli animali trattati una sola volta

Nell'indicare la DL50 deve essere specificata anche la via di somministrazione, la specie animale ed eventualmente anche la razza e il sesso

La DL50 è indicativa della sola tossicità acuta e riferita all'effetto letale. Non dà indicazioni sugli effetti a lungo termine, per esposizioni ripetute, né su eventuali effetti mutageni, cancerogeni o teratogeni

Per le sostanze gassose assunte per via inalatoria o per i pesci si parla di CL50 (Concentrazione Letale 50) per la quale occorre specificare anche il tempo di esposizione

Come si
costruisce
una curva
dose
risposta?



La curva dose-risposta è tipicamente rappresentata come dose o funzione della dose (p. es., \log_{10} della dose) sull'asse delle X e come misura dell'effetto (risposta) sull'asse delle Y. Poiché un effetto farmacologico è funzione sia della dose sia del tempo, un grafico di questo tipo descrive la relazione dose-risposta indipendentemente dal tempo.

CURVE DOSE RISPOSTA

Come esprimere la relazione dose-risposta?

Se la risposta misurata è:

- del tipo 'tutto o nulla' (es. morte, comparsa di tumori) con curve dose-risposta quantali. In questi casi, si misura la frequenza di risposta alle diverse dosi, cioè la percentuale di soggetti in cui compare la risposta.
- un parametro continuo (es.: peso di un organo, glicemia), si può esprimere l'intensità della risposta in funzione della dose con curve graduali.

Relazione dose- effetto

Dal punto di vista pratico :

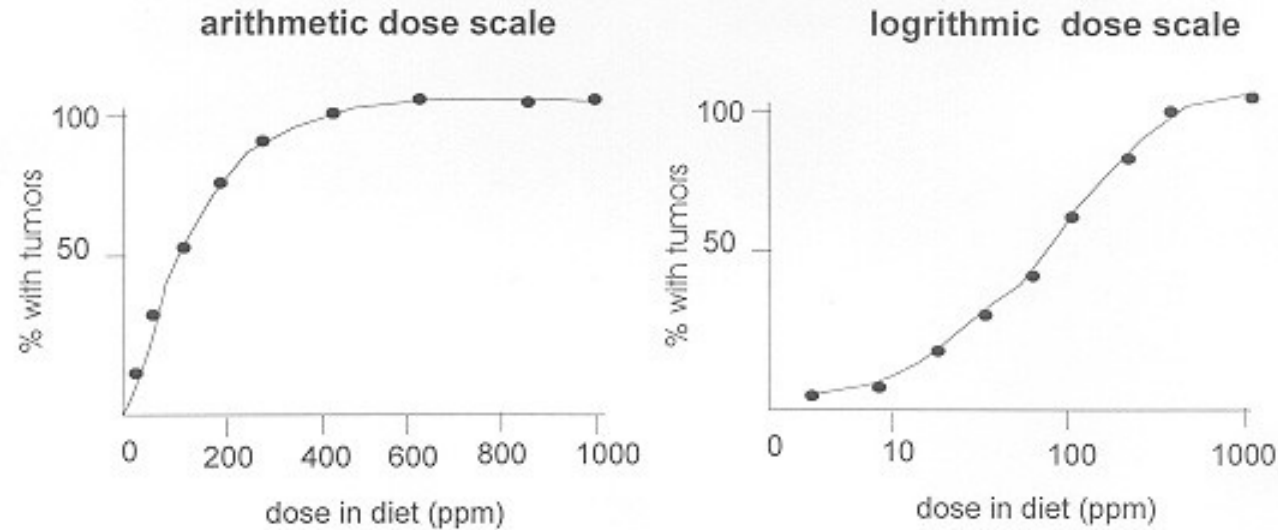
1. Le relazioni dose-risposta in una popolazione sono per definizione, di natura *quantale* o "tutto o nulla". Viene identificato uno specifico effetto e si determina la dose necessaria per produrre l'effetto in ogni singolo individuo della popolazione.
2. Le relazioni dose-risposta in un individuo sono di natura *graduale* o *su scala continua* perché l'effetto è continuo in un determinato intervallo di dosi. Descrive la risposta di un individuo a diverse concentrazioni della sostanza. E' caratterizzato da un aumento della concentrazione dipendente dell'intensità della risposta.

Relazione dose- effetto

Sebbene la distinzione in relazioni dose-risposta quantali (riferite alla popolazione) e graduali (riferite all'individuo) siano utili, concettualmente i due tipi di risposta sono identici. In entrambi i casi le risposte vengono riportate sull'asse delle ordinate e possono essere il grado di risposta di un individuo o di un sistema o la frazione di popolazione che risponde mentre l'intervallo delle dosi è riportato sull'asse delle ascisse.

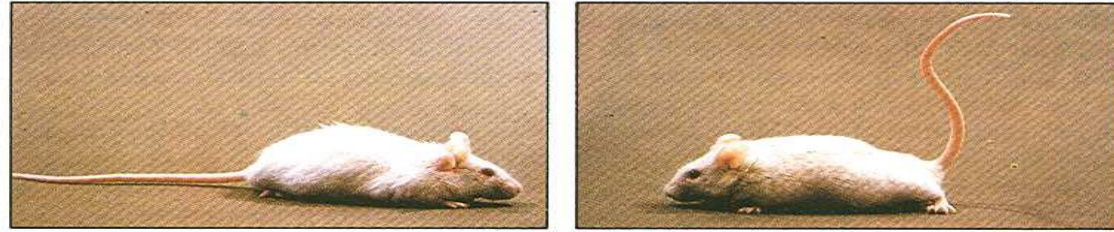
Curve dose-risposta quantali

Riportando in un grafico cartesiano la % di soggetti che rispondono in funzione della dose si ottiene una **curva dose-risposta cumulativa**; cioè, ad ogni dose corrispondono non solo i soggetti che rispondono **solo** a quella dose, ma anche i soggetti che rispondono a dosi più basse.

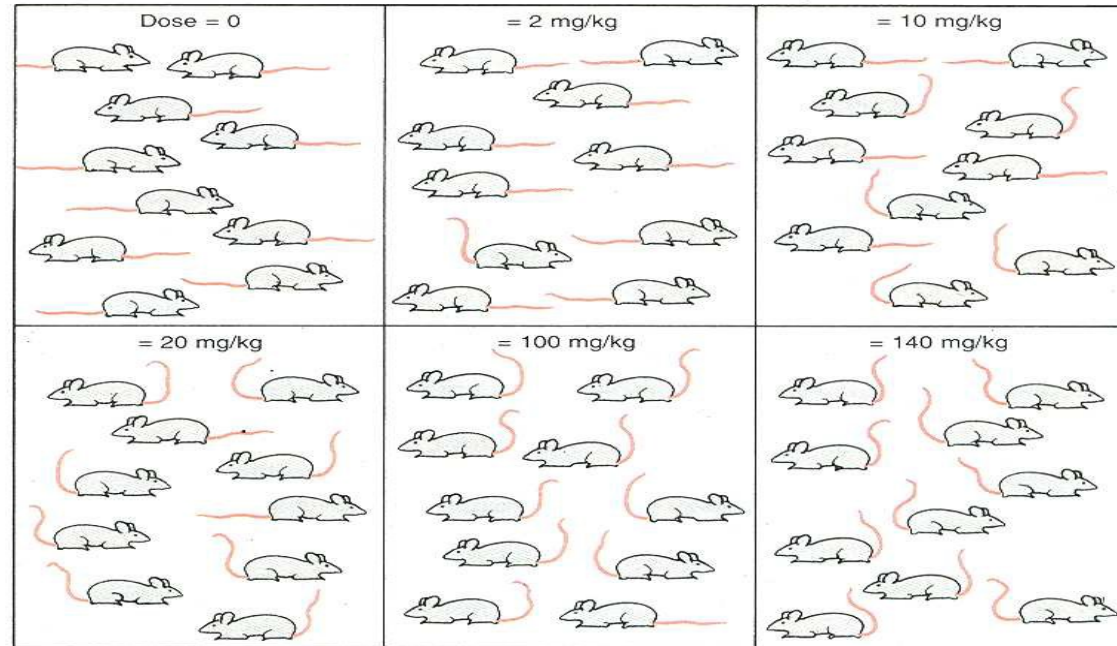


Trasformando il grafico in un grafico semilogaritmico, riportando cioè in ordinata il logaritmo della dose, si ottiene in genere una curva sigmoide.

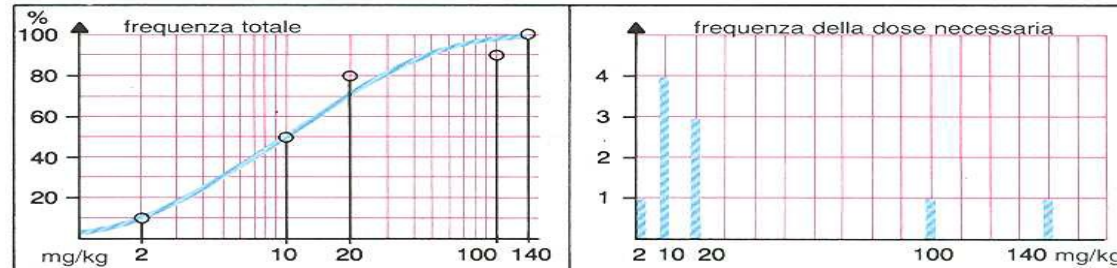
Curve dose-risposta quantali



A. Anomalia di comportamento del topo dopo somministrazione di morfina

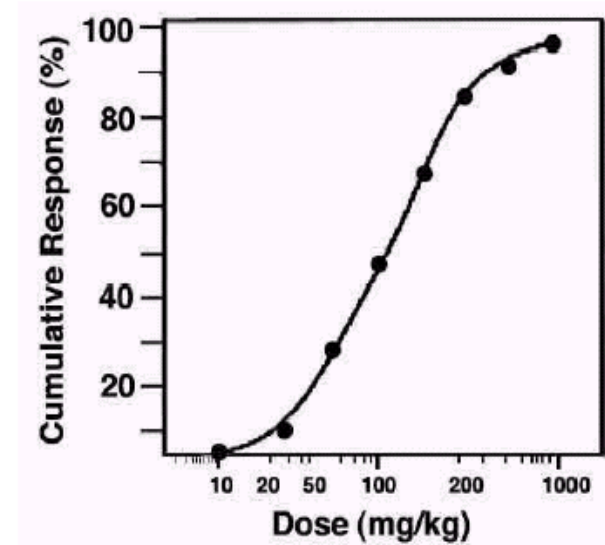
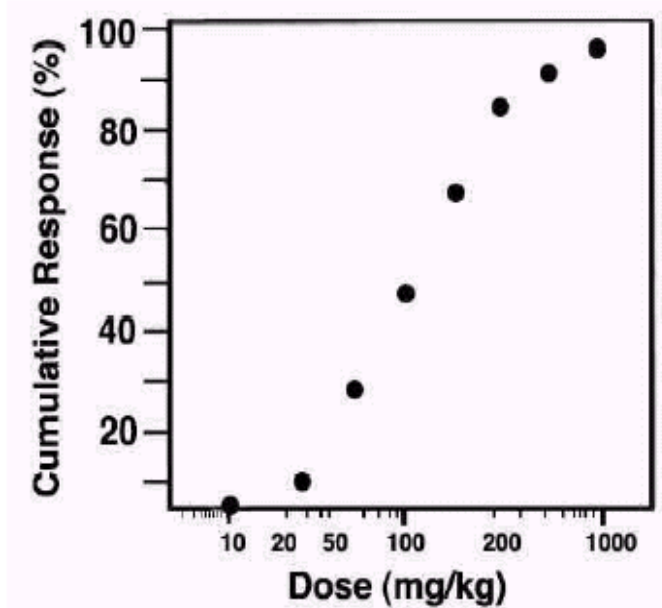


B. Comparsa dell'effetto in relazione alla dose



C. Relazione dose-effetto

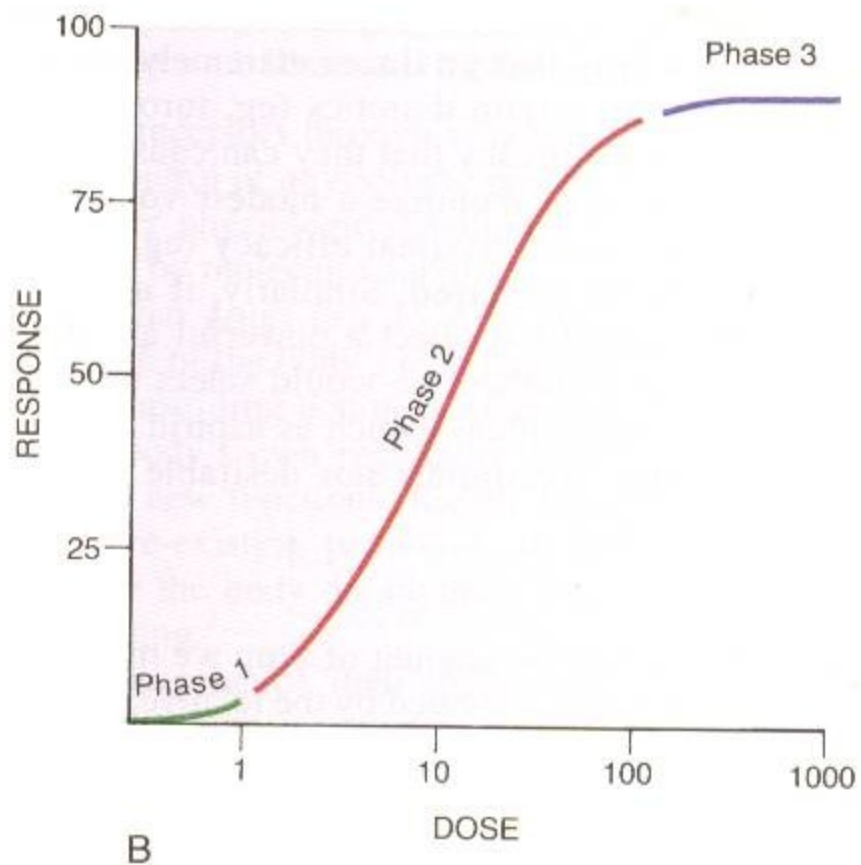
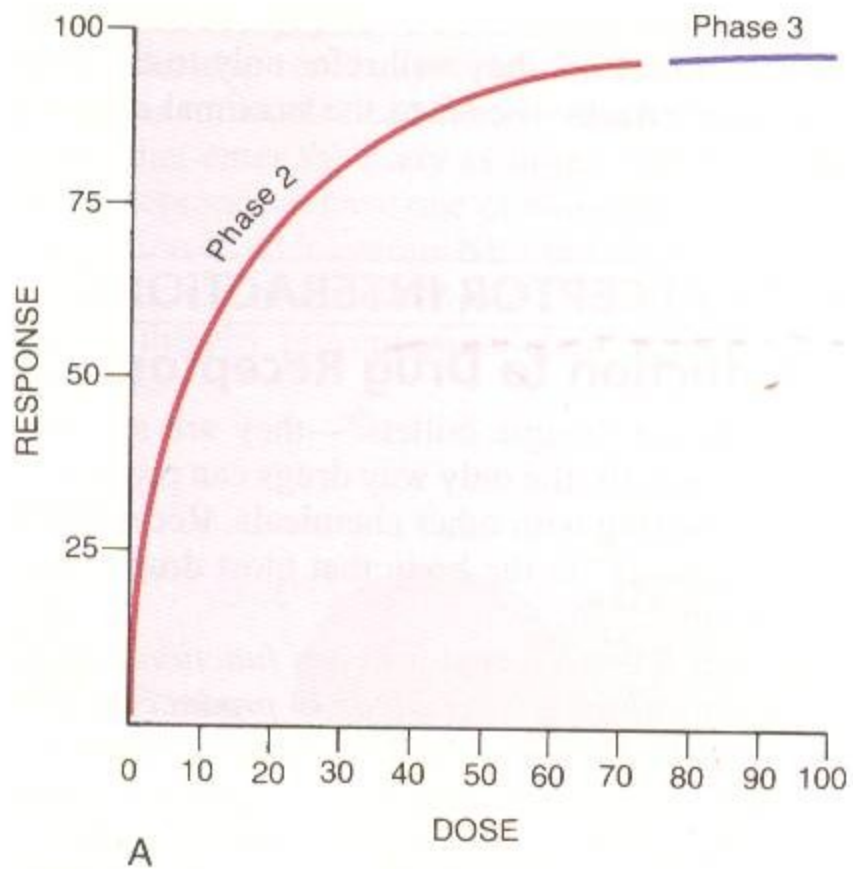
Curve dose-risposta quantali



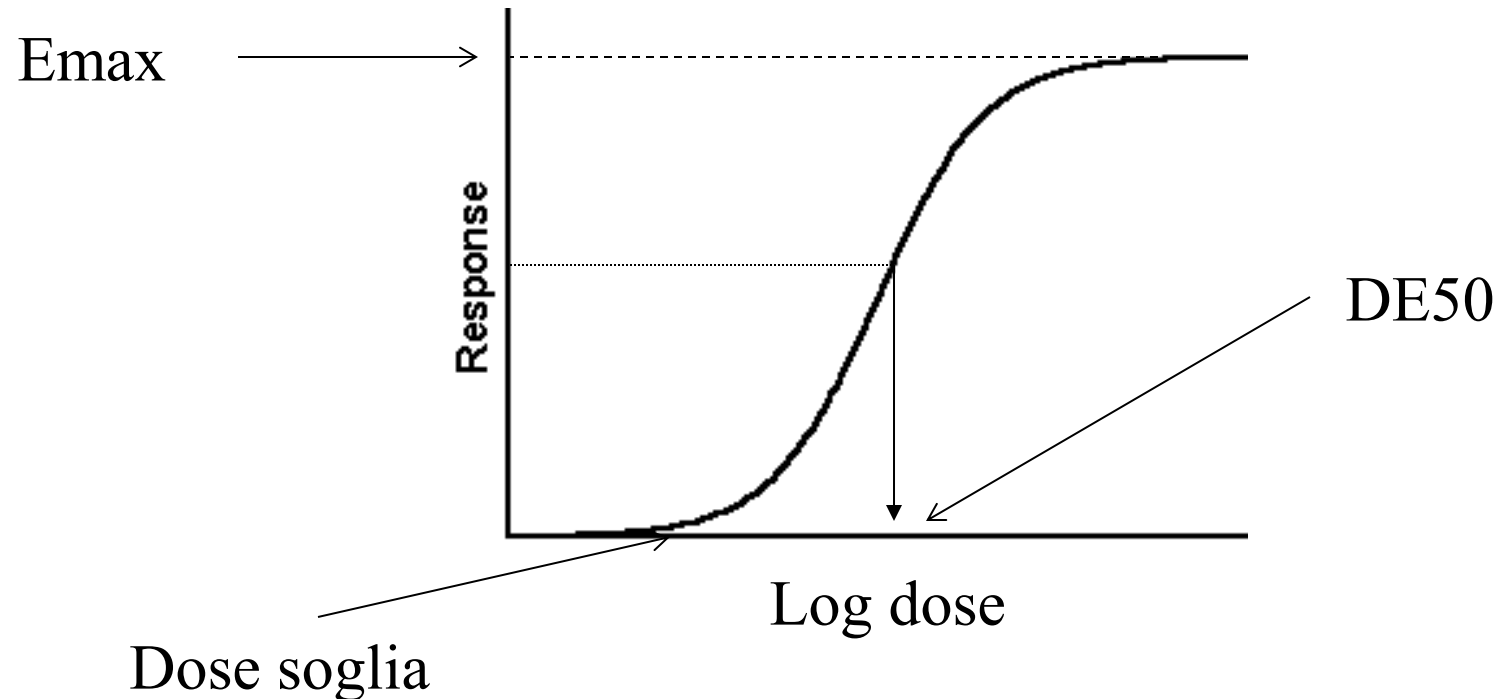
Here is the experimental data from 10 mice exposed to each of eight drug doses (80 mice total in the experiment). Each datapoint represents the percent mortality at each dose. In the first, low dose we see a 0% response (in other words 0 out of 10 mice succumbed due to the exposure). At higher and higher doses, there was an increase in the % response.

If we fit a line to these datapoints we see that there is a sigmoid shape to the data. This is typical for dose response graphs. Note that the curve is a “best fit” line; it does not necessarily go through each and every datapoint. What I’d like to point out is that the mid-range experimental dose groups responded in a linear fashion with respect to the dose (I am referring to the responses between 16 and 84%).

Curve dose-risposta graduale



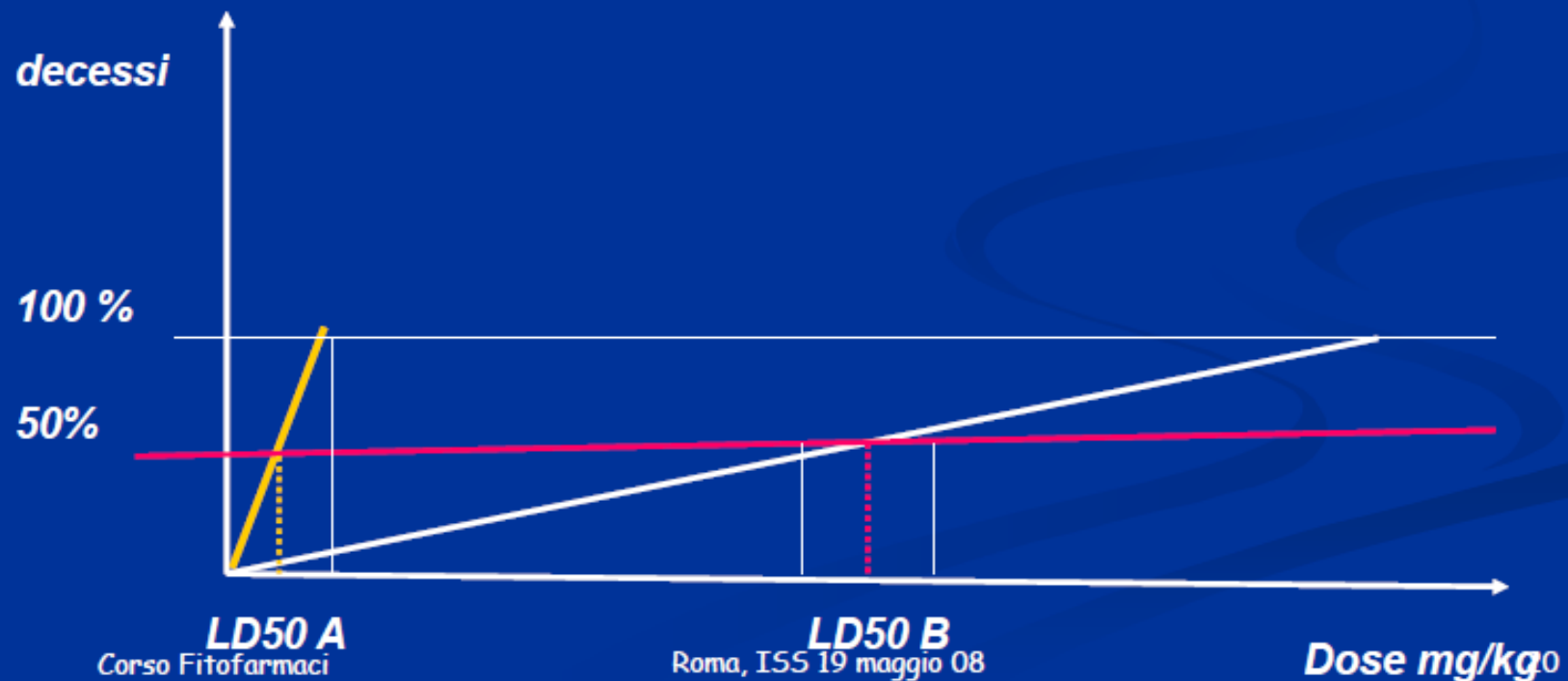
I **parametri caratterizzanti** la relazione dose-risposta sono: la risposta massima (E_{max}); la dose che produce un effetto pari al 50% di E_{max} (**DE50**); la minima concentrazione alla quale si ha un effetto (**dose soglia**); la dose soglia e la DE50 sono una misura della potenza della sostanza.



L'effetto di un farmaco è proporzionale al numero di recettori occupati, quindi aumenta all'aumentare della dose. E E_{max} si ha con tutti i recettori occupati

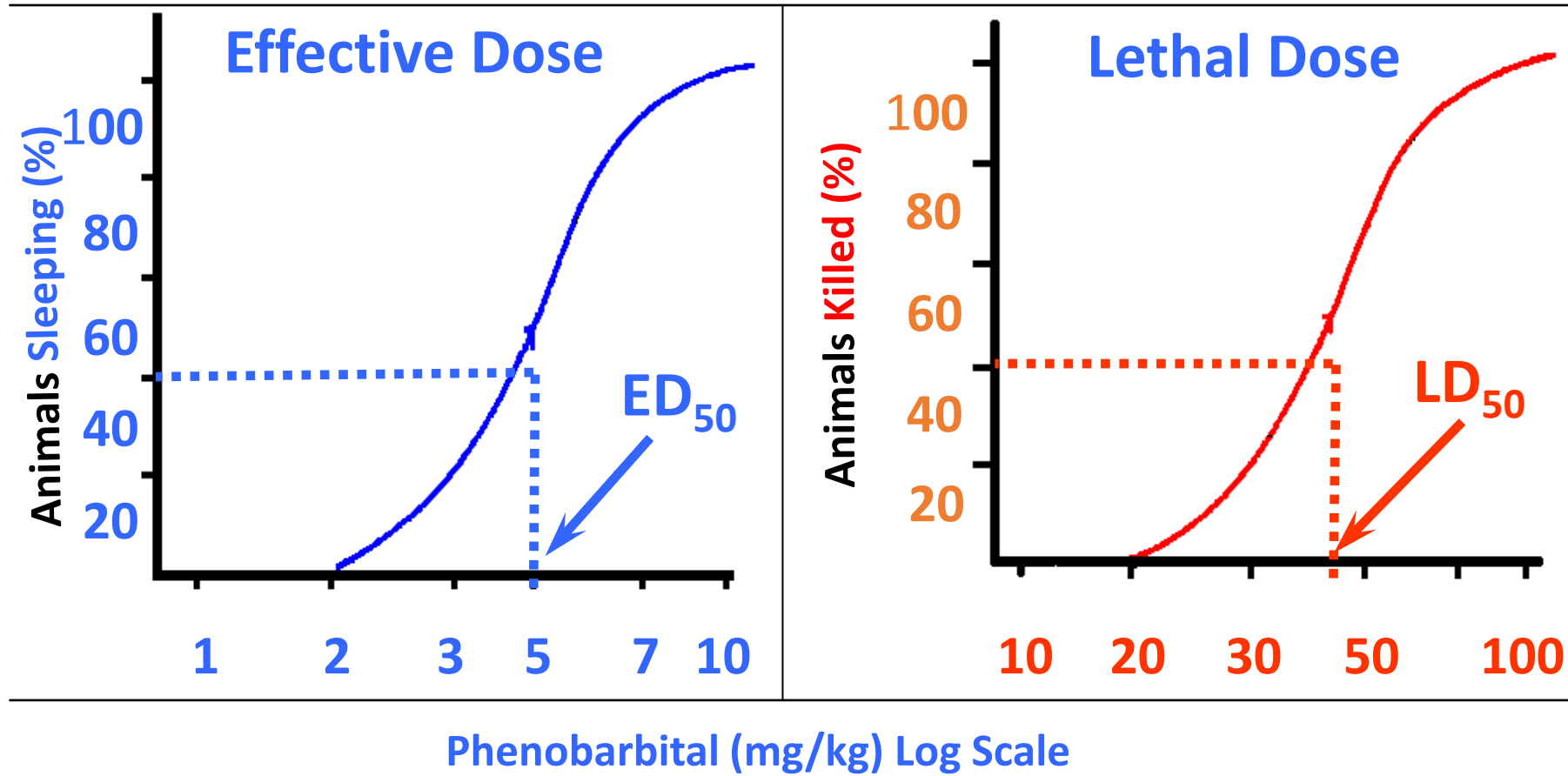
Relazione dose-effetto

- La LD_{50} e/o la ED_{50} sono il primo esempio di curva dose-risposta espressione della relazione dose-effetto.
- Importanza della Forma della curva/ Pendenza della retta. (curva/retta ripida: piccole variazioni di concentrazione determinano grandi differenze nella risposta)

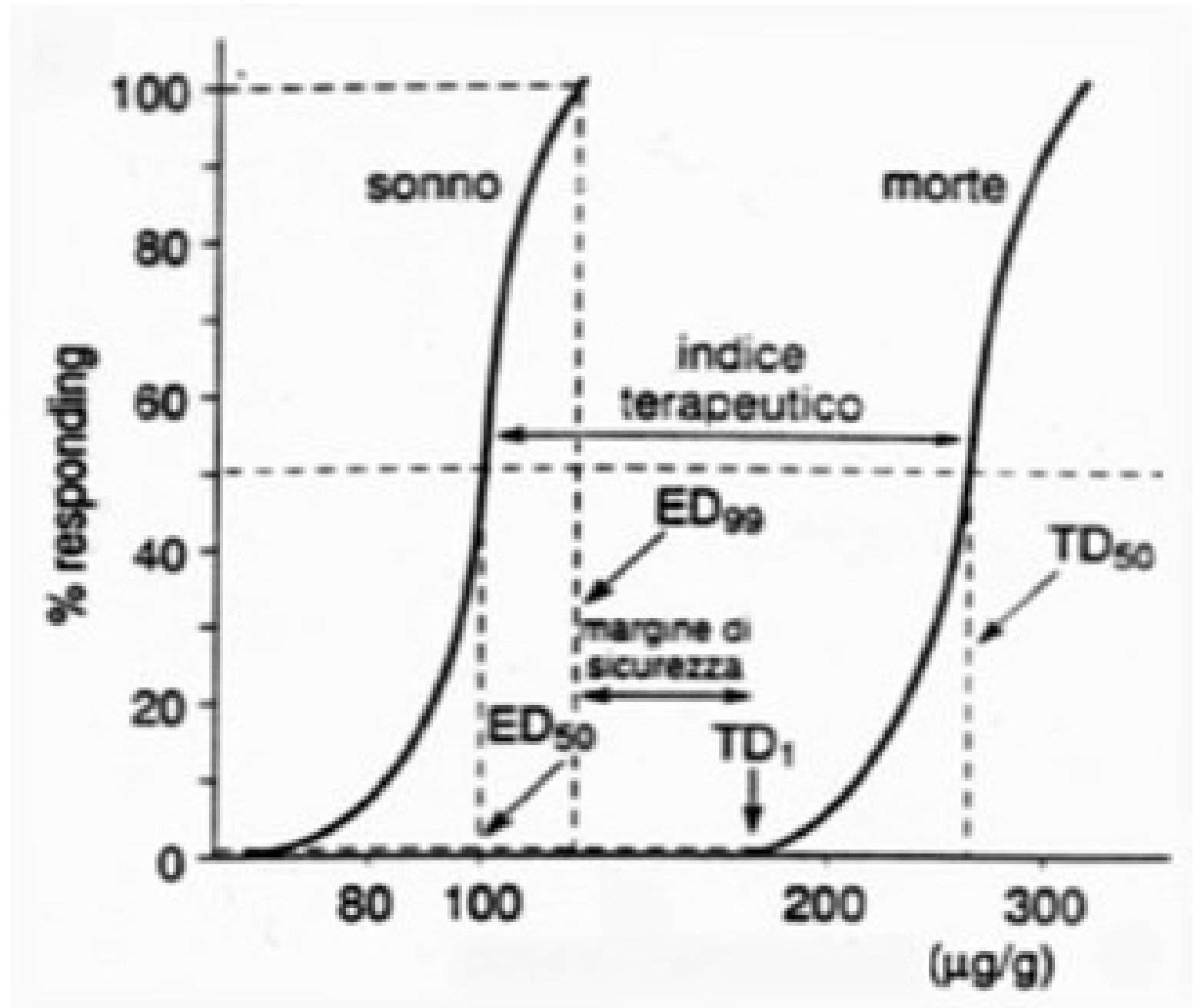


Dose-Response Relationship

"The Dose Makes the Poison"



Indice terapeutico e margine di maneggevolezza



INDICE TERAPEUTICO

Rapporto tra il valore di DL50/DE50

Alto IT farmaco sicuro(antibiotici)

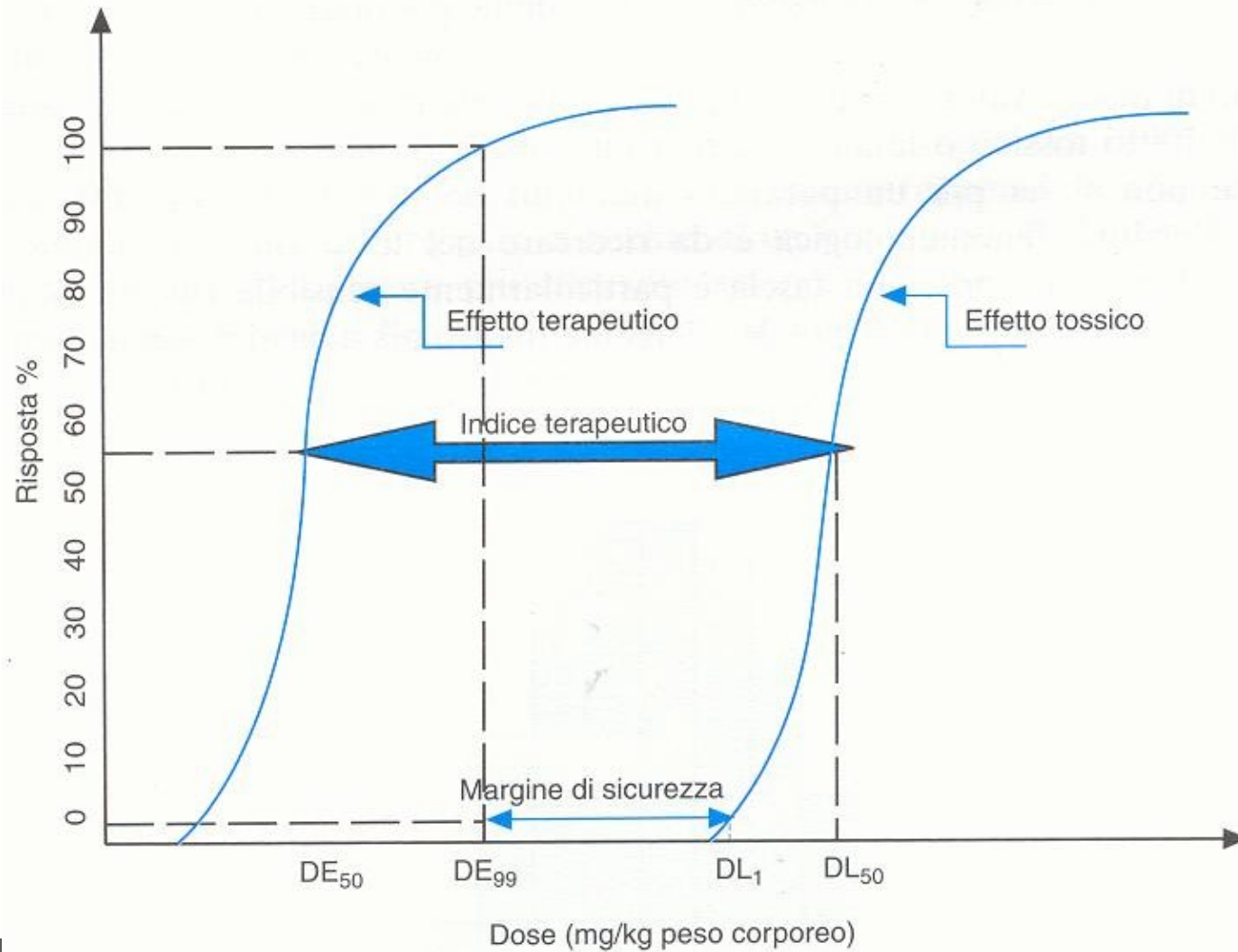
Se il valore di IT è elevato significa che la DL50 è molto maggiore della DE50, cioè agli effetti terapeutici non sono legati effetti tossici. L'IT non dà indicazioni relativamente alla pendenza della curva dose-risposta e possibili sovrapposizioni tra effetti tossici ed effetti terapeutici. Queste informazioni si ottengono dalle curve dose-risposta.

MARGINE DI SICUREZZA

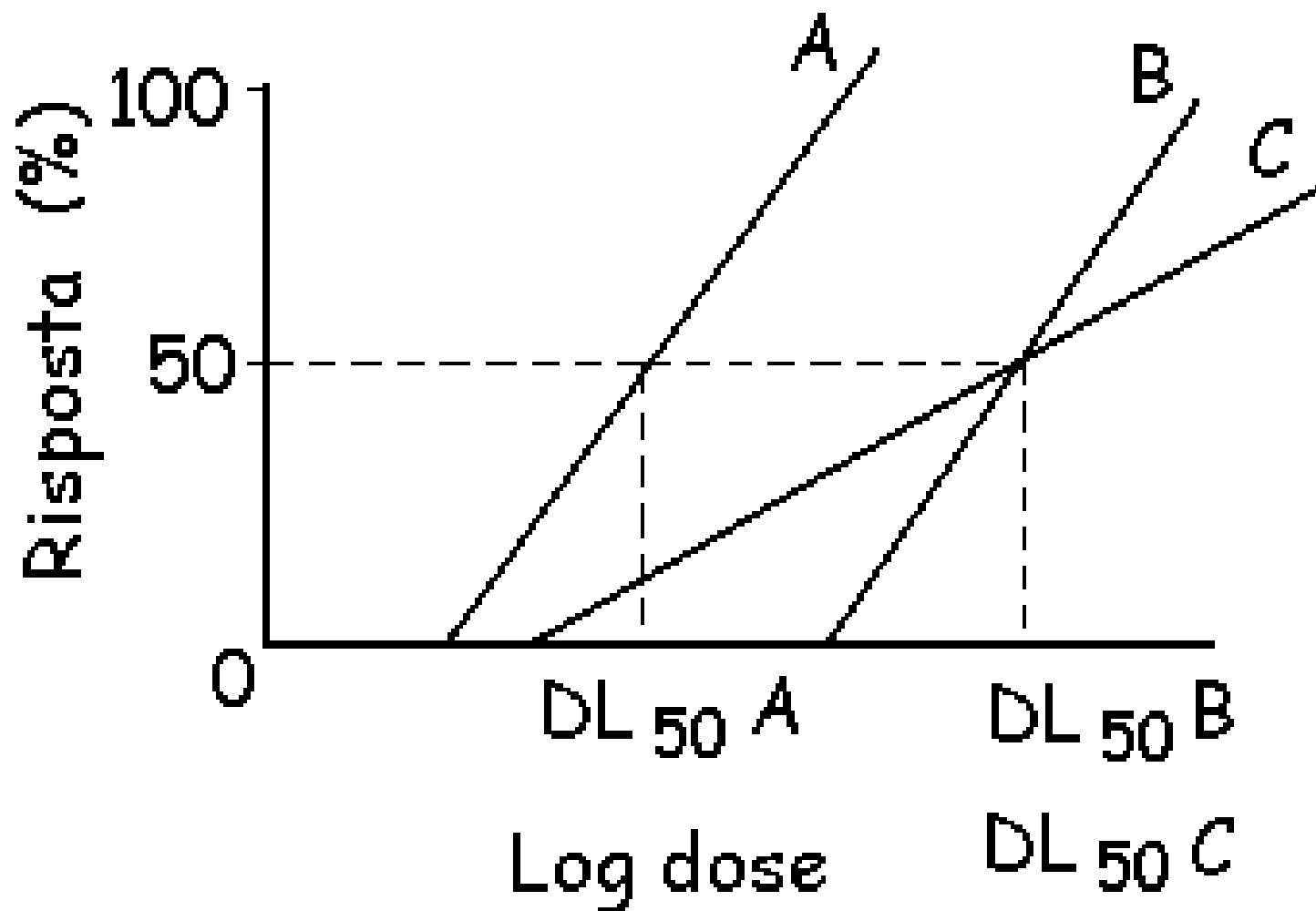
- espresso come il quoziente tra la DL1, cioè la dose letale sull'1% del sistema biologico studiato e la DE99, cioè la dose efficace nel 99% del sistema studiato:
- **Margine di sicurezza = $DL1/DE99$**

$$\text{Indice terapeutico} = DL_{50}/DE_{50}$$

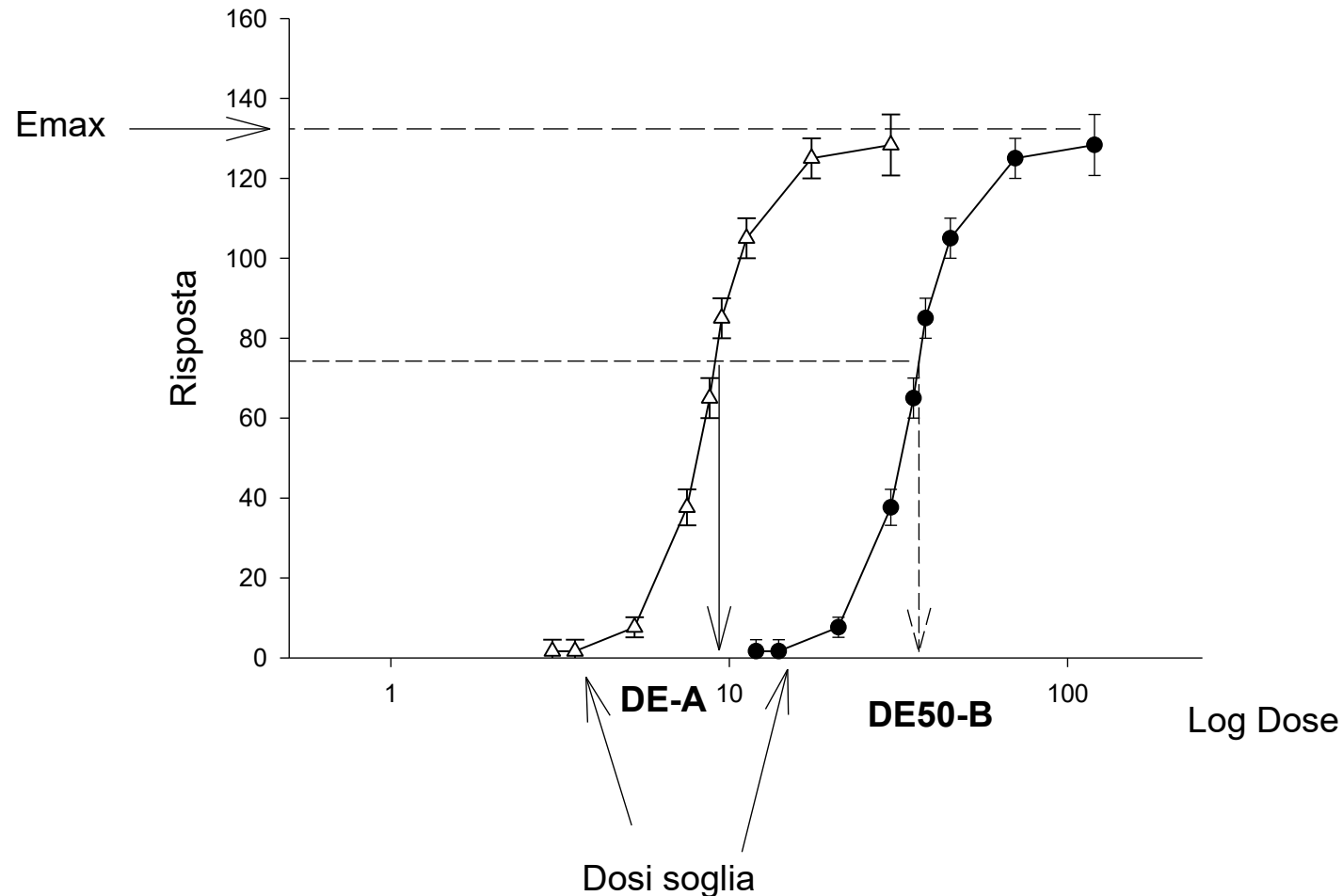
$$\text{Margine di sicurezza} = DL_1/DE_{99}$$



Esempi di
curve dose-
risposta

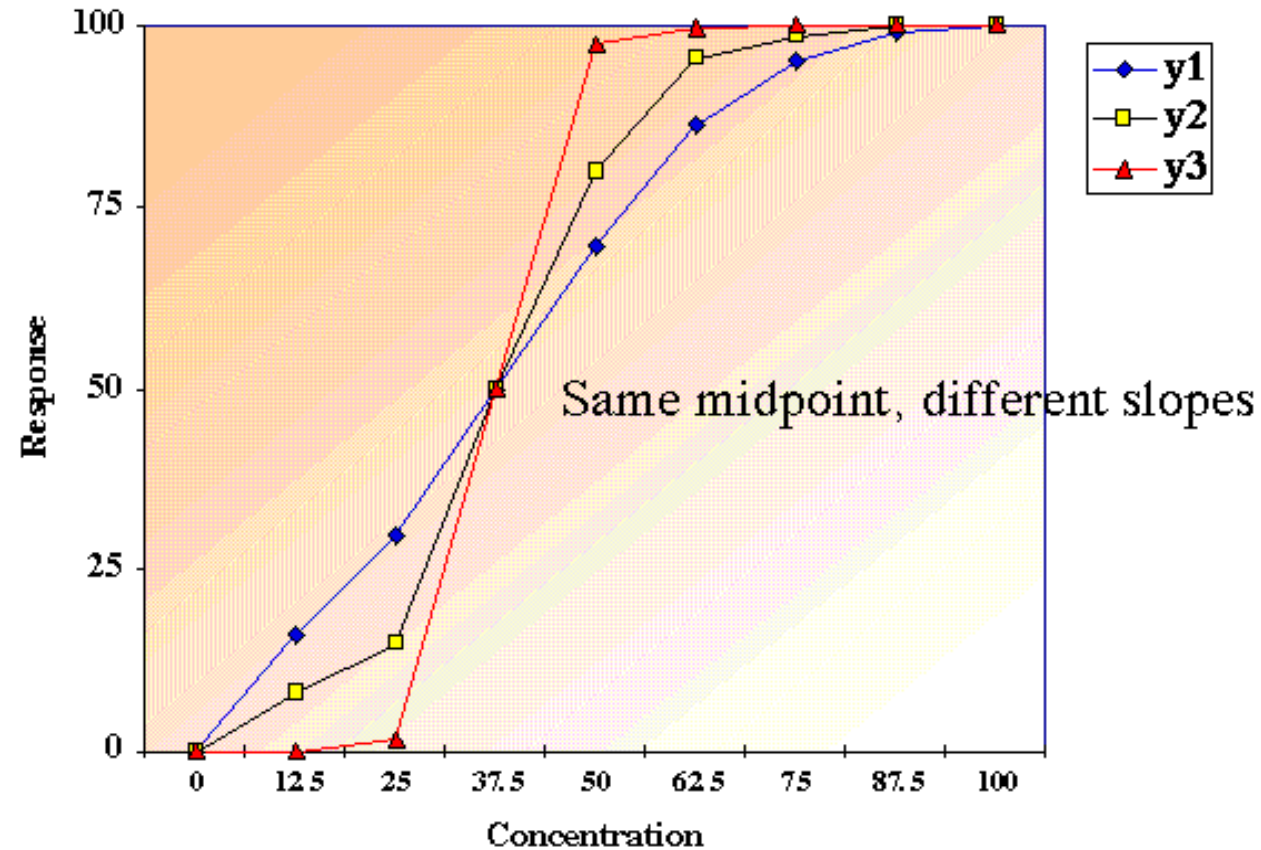


CONFRONTI TRA CURVE DOSE-RISPOSTA



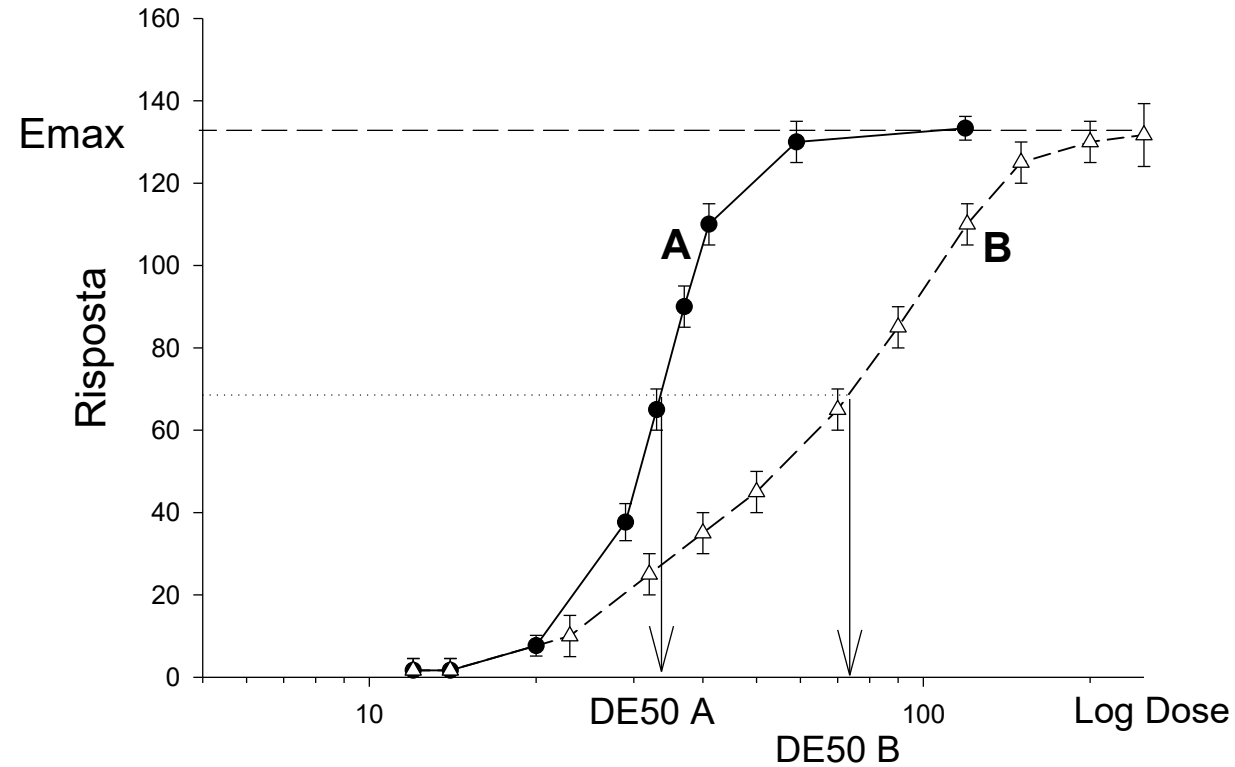
Curve dose-risposta parallele: DE50 e dosi soglia diverse, uguale pendenza

Confronti tra curve dose-risposta



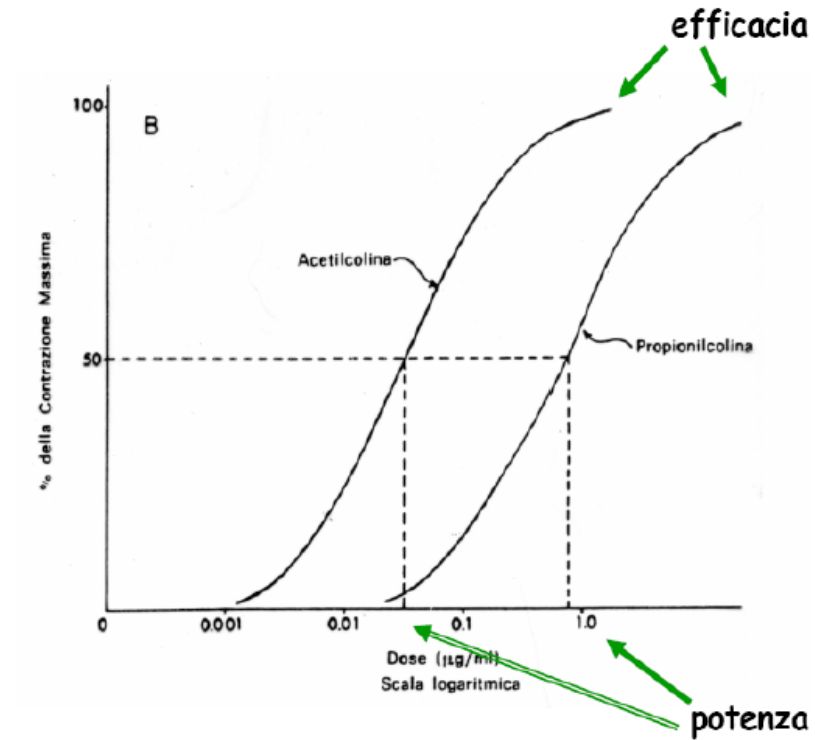
Curve con uguale DE50 ma pendenze e dosi soglia diverse

Confronti tra curve dose-risposta



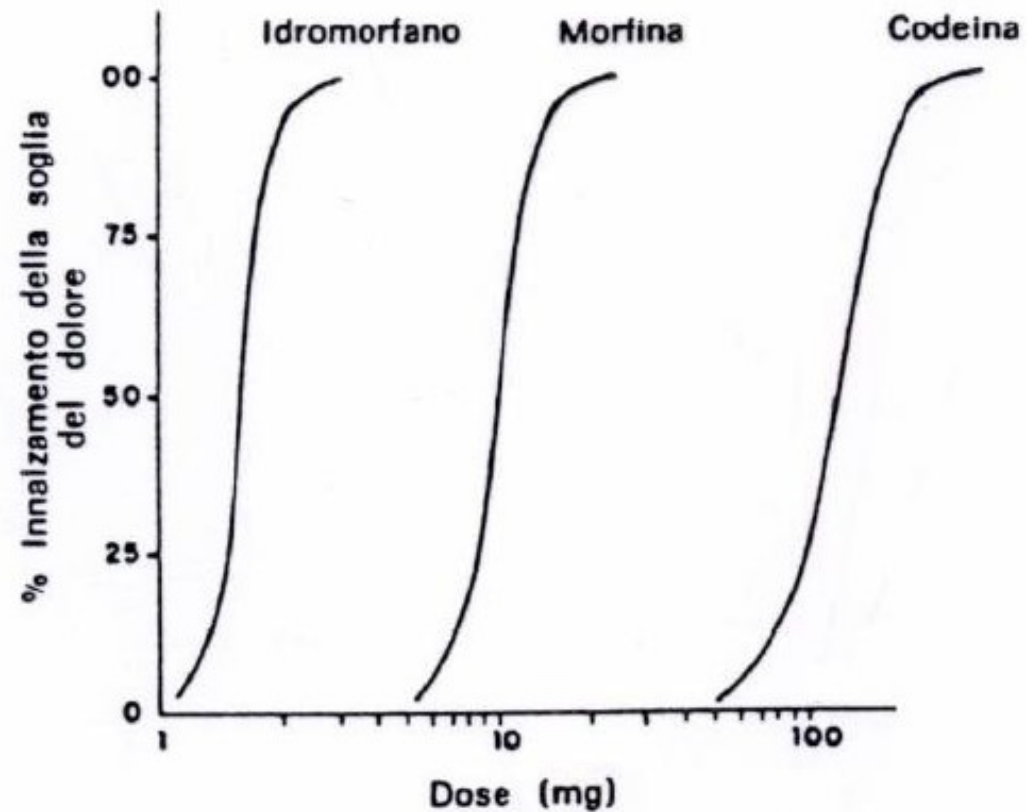
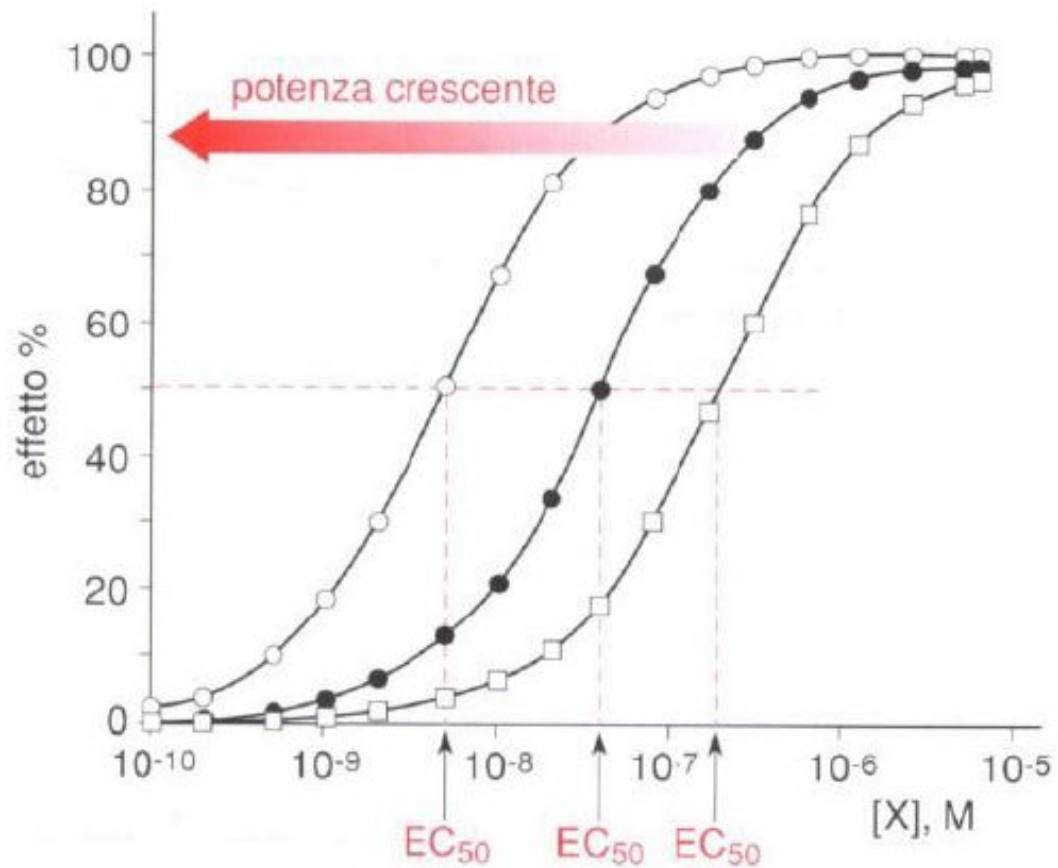
Esempio di curve dose-risposta graduali non parallele:
DE50 diverse, dosi soglia uguali pendenze diverse

FARMACI AGONISTI

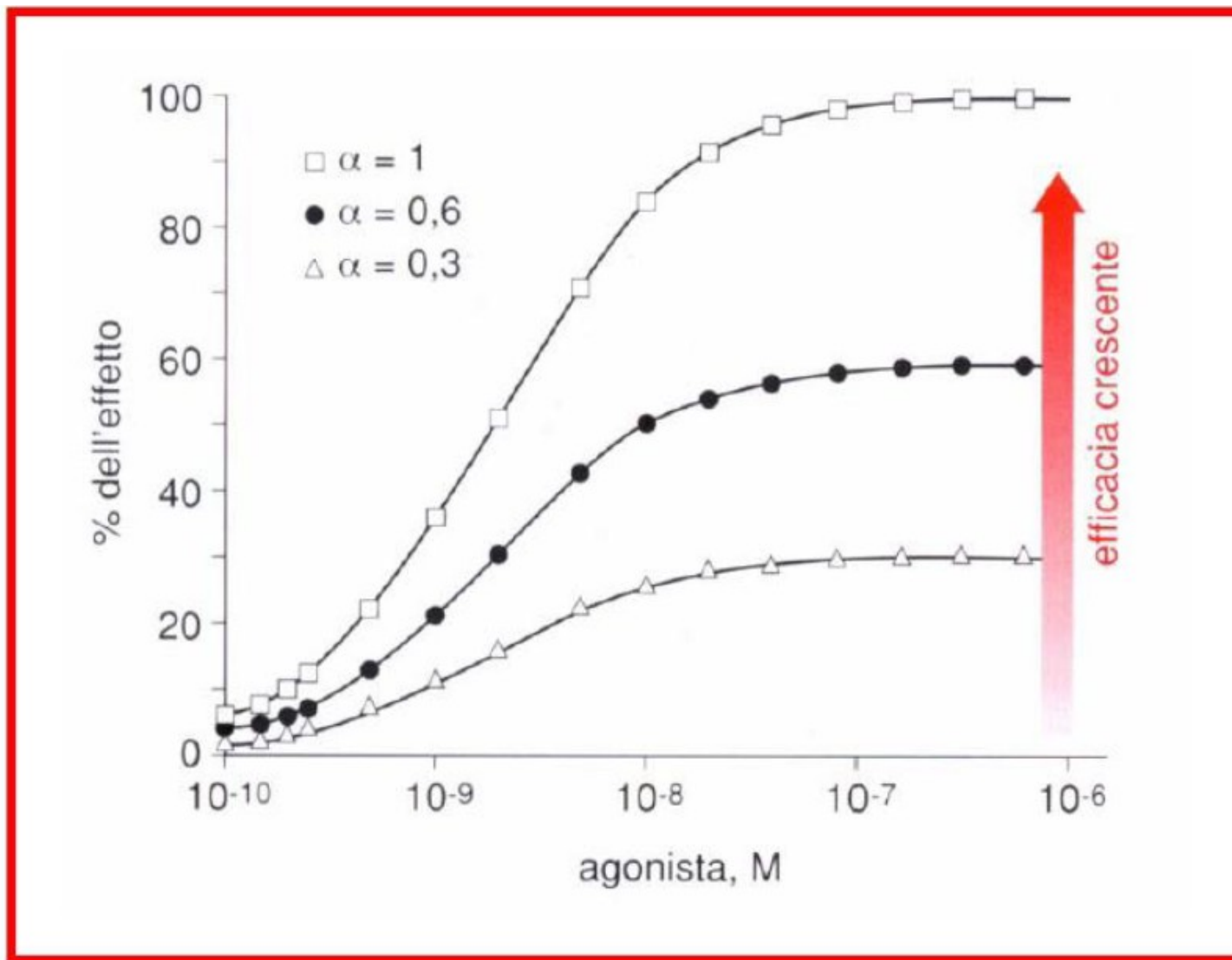


Un farmaco agonista è in grado di legare il recettore (affinità) e determinare un effetto farmacologico (potenza)

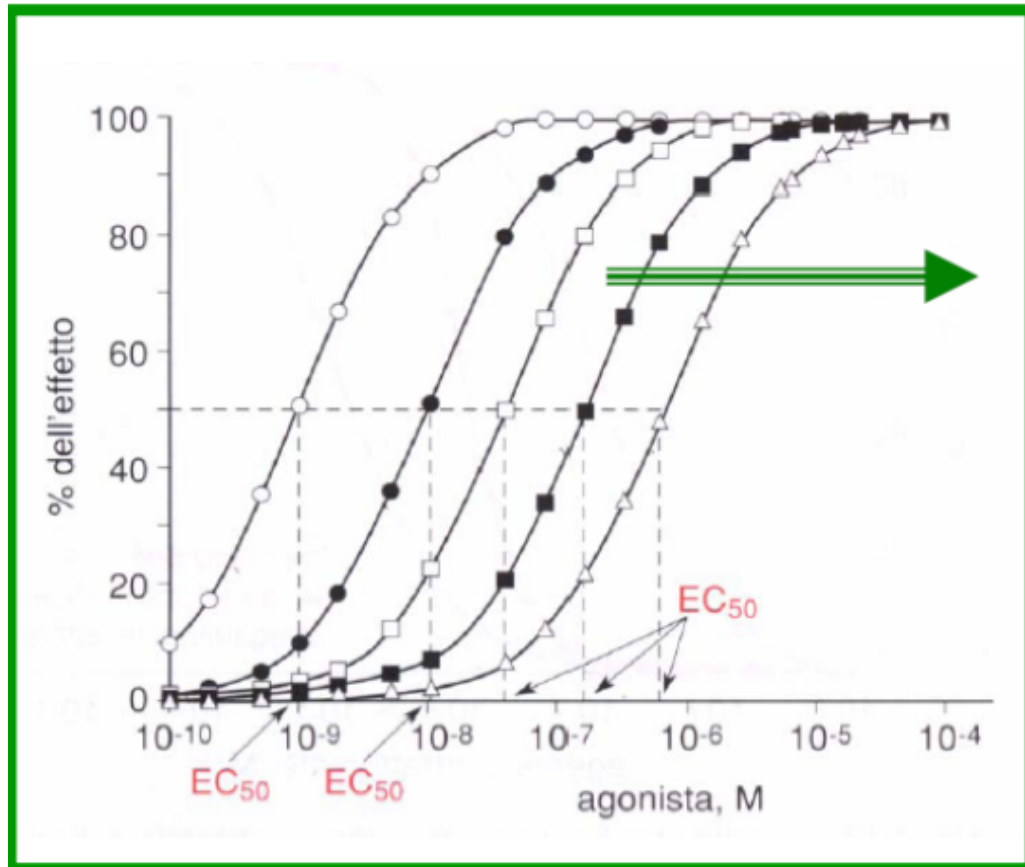
POTENZA DI UN FARMACO



EFFICACIA



ANTAGONISTI COMPETITIVI

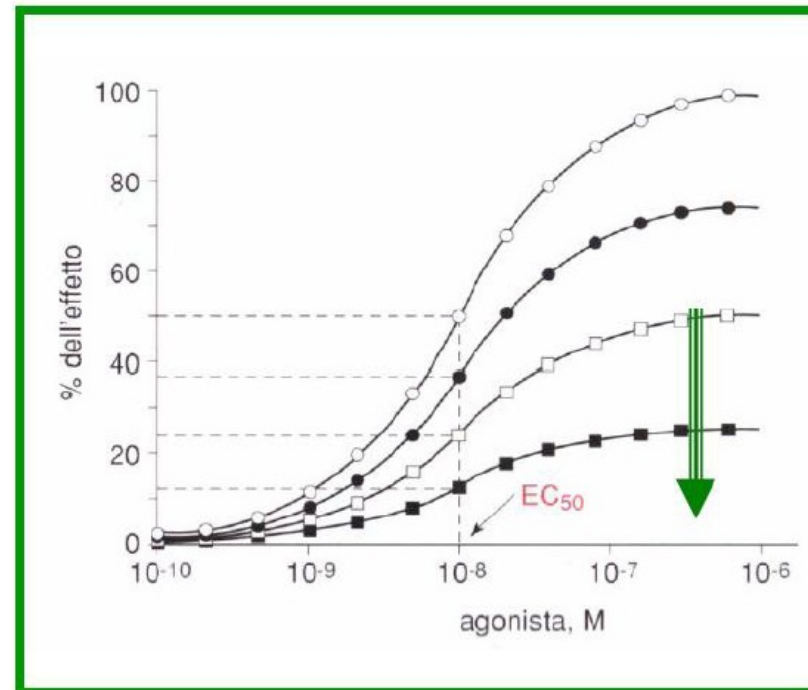


Un antagonista competitivo **sposta** la **curva dose-risposta** dell'agonista verso **destra**

Aumentando la concentrazione di agonista si può generare lo **stesso effetto massimo** ottenuto in assenza dell'antagonista

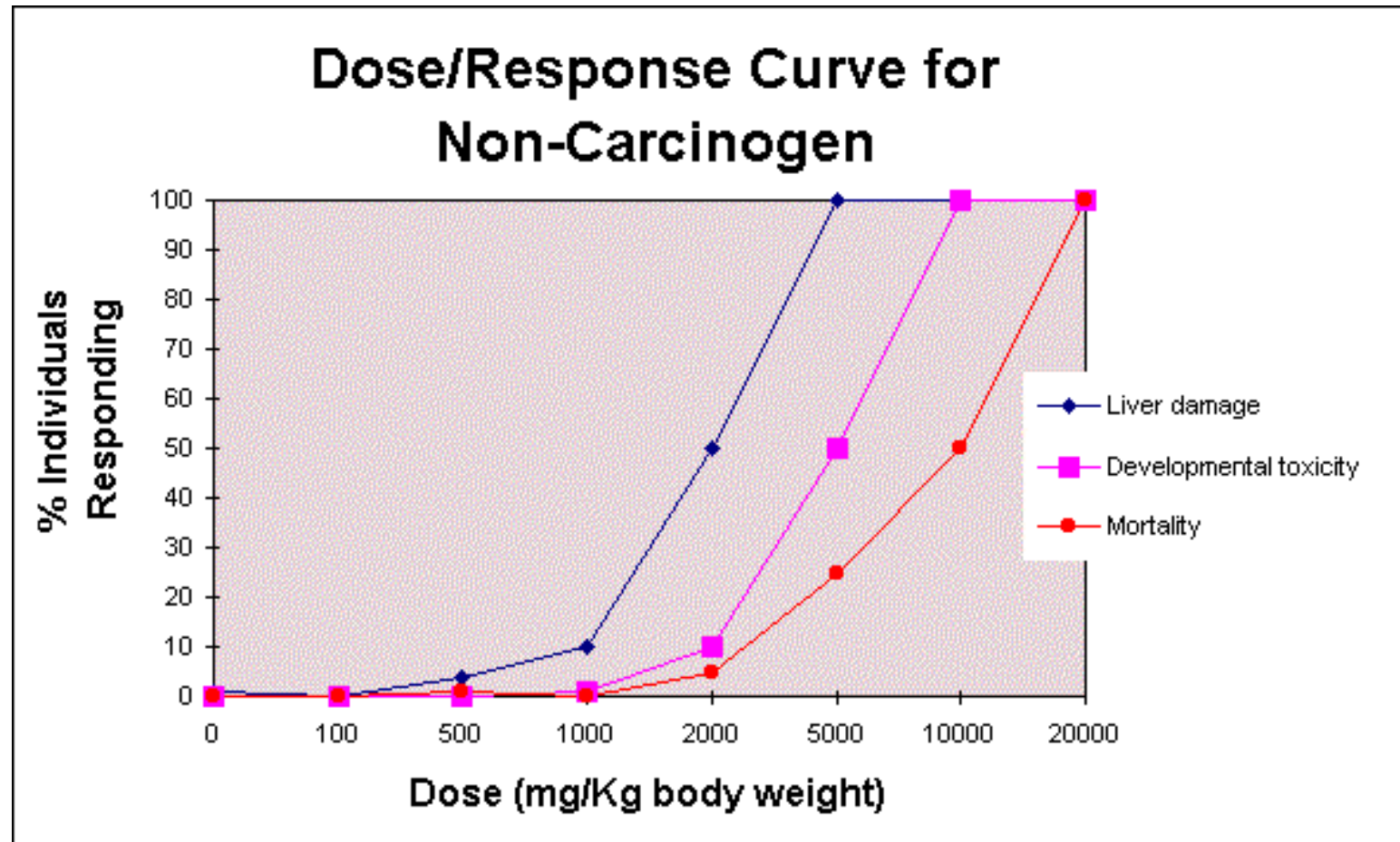
Un antagonista competitivo **riduce** la **potenza** dell'agonista

ANTAGONISMO NON COMPETITIVO

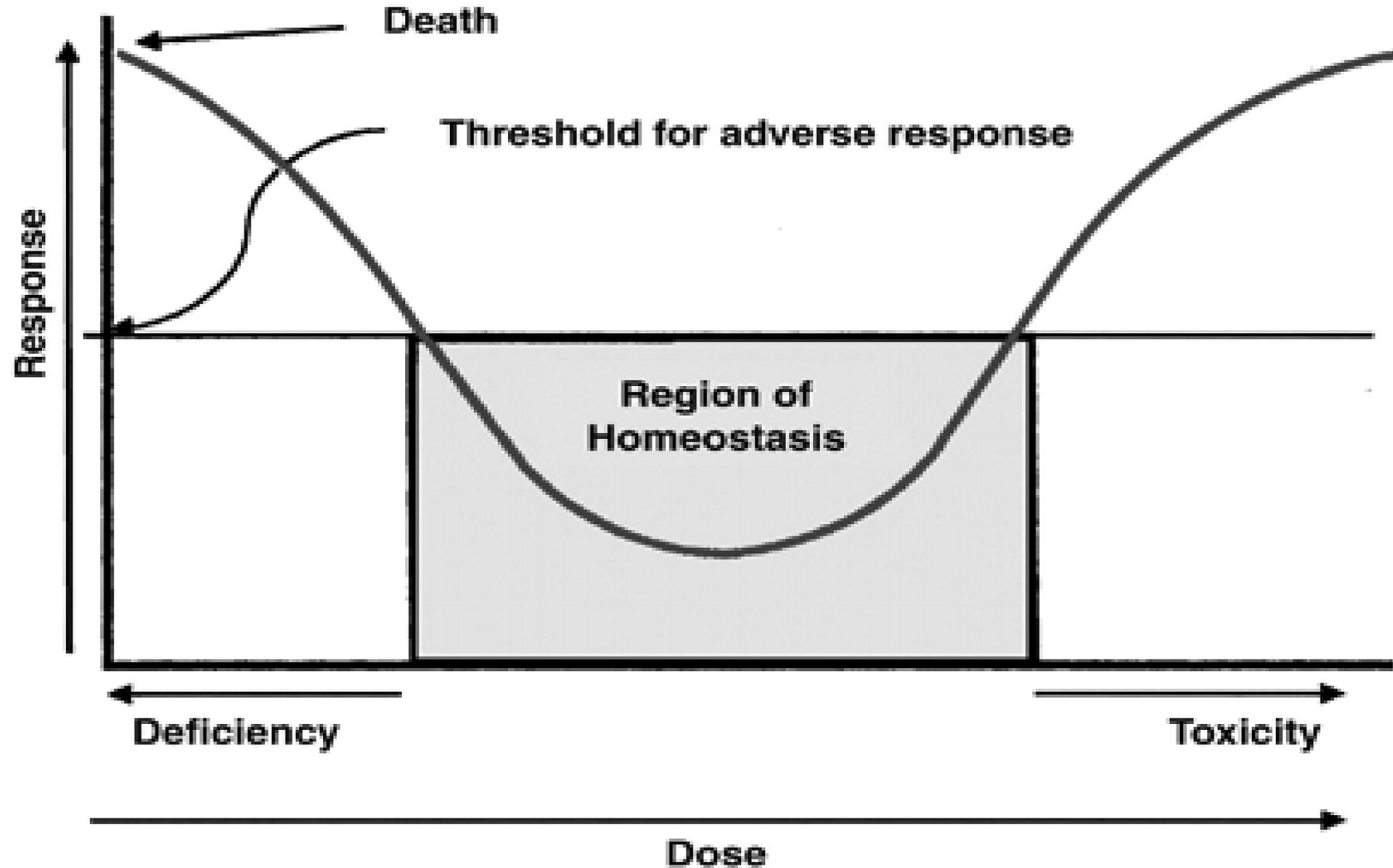


Un antagonista non competitivo **deprime l'effetto massimo** ottenibile anche con dosi elevate dell'agonista senza modificarne la potenza.

N.B.: spesso le curve dose-risposta di una sostanza sono parzialmente sovrapposte \Rightarrow dosi con effetti tossici multipli



Relazione dose – risposta x nutrienti



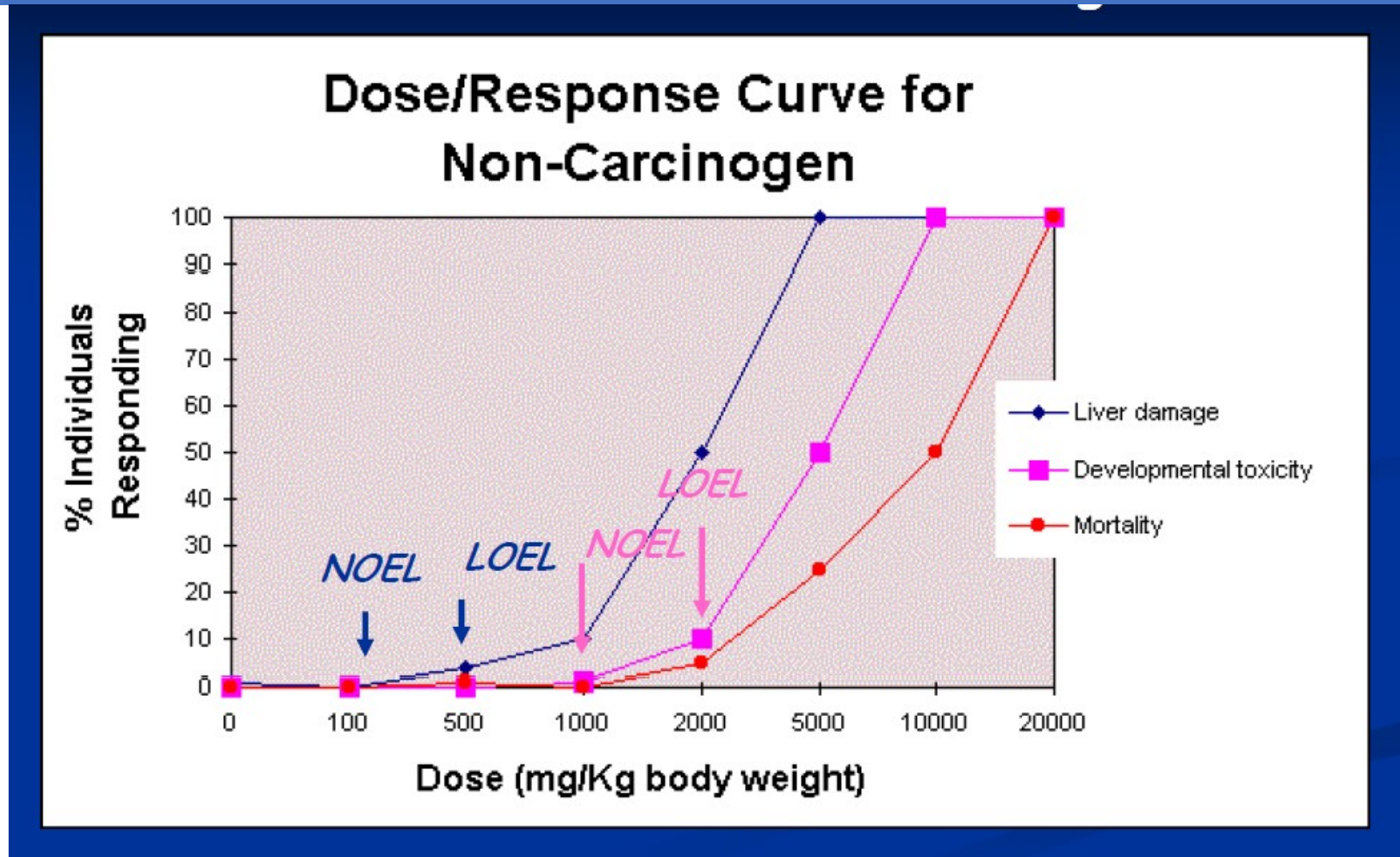
Fattori che possono influenzare le proprietà tossiche di una sostanza

Fattori relativi all'agente tossico	Caratteristiche chimico-fisiche, purezza, veicolo
Fattori relativi all'esposizione	Dose, via di introduzione, durata dell'assunzione, frequenza delle assunzioni, concentrazione nell'organo bersaglio
Fattori relativi al soggetto	Specie, razza, sesso, età, corredo genetico individuale, stato di salute, stato nutrizionale e ormonale
Fattori ambientali	Temperatura, umidità, ecc.
Interazioni chimiche	

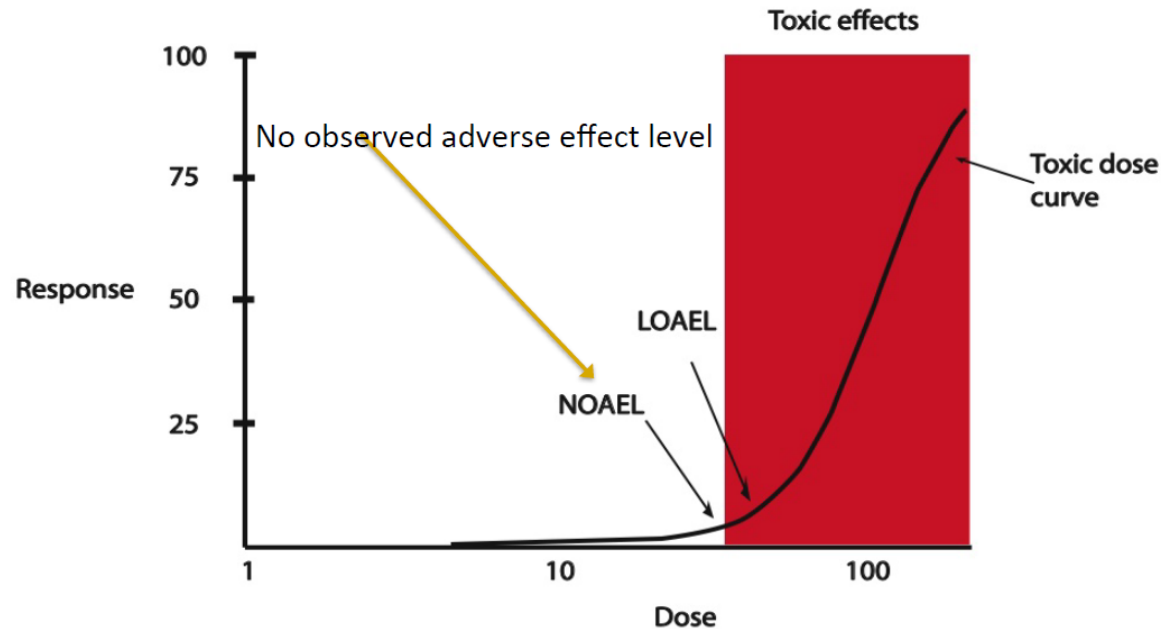
OBIETTIVI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI ANIMALI

- ACUTI E SUBACUTI → determinazione della DL50
- SUBCRONICI E CRONICI → NOEL/NOAEL, LOEL/LOAEL
- ↓
- Valutazione del rischio
- Calcolo dell'ADI
- **Composti non cancerogeni e/o cancerogeni non genotossici.**
- Per questi composti esiste una **dose soglia**, al di sotto della quale l'effetto tossico non si manifesta.
- Gli studi animali forniscono i valori di NOEL e LOEL

Variazione degli effetti = variazione delle curve dose/risposta e delle dosi soglia



VALUTAZIONE DEL NOEL



La determinazione del NOAEL è condizionata dal protocollo sperimentale cioè dal numero di animali, il tipo di risposta osservata (sensibilità), dal metodo di analisi e specialmente dalla selezione ed ampiezza delle dosi. Infatti si potrebbero avere dei NOAEL diversi da due studi "identici" per uno stesso end-point che differiscono solo per le dosi scelte

Il **NOEL** (*No Observed Effect Level*) è la dose senza effetto (in mg/kg di peso corporeo) rivelata da studi a lungo termine su più specie animali. In genere si utilizza il NOEL relativo alla specie animale che si è rivelata essere più sensibile, dove cioè l'effetto tossico si manifesta alla dose più bassa.