

TOSSICOLOGIA VETERINARIA

La Tossicologia Veterinaria appartiene alla branca delle discipline cliniche in quanto studia la natura (**cosa**), le proprietà (**come**), le dosi (**quanto**), gli effetti (**perché**), la diagnosi e la terapia delle sostanze chimiche — potenzialmente tossiche.

Definizione di tossico

Un tossico è una sostanza **chimica** che, una volta venuta a contatto con un sistema biologico, determina una alterazione dello stato fisiologico non desiderata

Intossicazione

Per “intossicazione” s’intende una malattia acuta o cronica che si produce a seguito dell’esposizione dell’organismo ad una sostanza tossica. L’intossicazione è un fenomeno complesso ed è il risultato di processi che riguardano la sostanza, l’organismo e l’interazione tra sostanza ed organismo per la cui comprensione è necessario conoscere la chimica, la biochimica, la biologia, la fisiologia, i meccanismi patologici.

Intossicazione

L'elemento che differenzia l'intossicazione dalle altre alterazioni dello stato fisiologico causate da diversa natura (traumatica, infettiva, degenerativa ecc.) è l'estraneità (in senso **qualitativo o quantitativo**) dell'agente eziologico (**sostanza chimica**), intendendo come estranea una sostanza chimica che non è normalmente presente in un organismo o presente a concentrazioni non fisiologiche (**in eccesso**).

Il concetto di estraneo (**quantità e qualità**) deve essere sempre strettamente connesso alla definizione di dose e al tempo di esposizione.

- **NESSUNA SOSTANZA E' UN VELENO DI PER SE STESSA, MA E' LA DOSE CHE FA DELLA SOSTANZA UN VELENO.**

**FILIPPO AUREOLO PARACELSO
(1493-1541)**

$$Et_s = C_s (b)_{(t)} * R_{(n)} * AF_{(sr)}$$

Fattori che influenzano la risposta tossicologica

- A) Fattori relativi alla sostanza**
(dose, caratteristiche molecolari, meccanismo d'azione)

- B) Fattori relativi all'individuo**
(Vie di contatto o assunzione, tossicocinetica, soggetto)

- C) Fattori relativi al tempo di contatto con la sostanza tossica**
(permettono di distinguere la natura acuta o cronica dell'intossicazione)

A) Fattori relativi alla sostanza

1) Dose

2) Struttura molecolare

3) Meccanismo d'azione

COS'È LA DOSE?

- È DEFINITA COME QUELLA QUANTITA' DI SOSTANZA ESPRESSA IN UNITA' DI PESO O DI VOLUME PER UNITA' DI PESO CORPOREO

mg/kg o ml/kg (p.v.)

UNITÀ DI MISURA

- DOSE
- CONCENTRAZIONI

DL₅₀ DT₅₀
(DOSE LETALE 50 O DOSE LETALE MEDIA)
(DOSE TOSSICA 50 O DOSE TOSSICA MEDIA)

**È DEFINITA COME QUELLA DOSE CHE
SOMMINISTRATA IN UNA DETERMINATA
SPECIE PER UNA DETERMINATA VIA E' IN
GRADO DI DETERMINARE LA MORTE (UN
DETERMINATO EFFETTO TOSSICO MISURABILE)
DEL (NEL) 50% DEGLI ANIMALI TRATTATI**

CLASSIFICAZIONE DELLE SOSTANZE IN CATEGORIE CORRELATE ALLA LORO TOSSICITÀ

Indice di tossicità	Terminologia di uso corrente	Probabile dose letale in uomo di 70 kg
6	supertossiche	<5mg/kg
5	altamente tossiche	5-50 mg/kg
4	molto tossiche	50-500 mg/kg
3	moderatamente tossiche	0,5-5 g/kg
2	leggermente tossiche	5-15 g/kg
1	praticamente atossiche	>15 g/kg

Le dosi sono estrapolate da osservazioni cliniche e dai valori delle DL₅₀ ottenute in varie specie animali

Classificazione delle sostanze tossiche in relazione al loro potenziale tossico

Livello di Tossicità	Esempio	DL₅₀ (mg/kg)
Leggermente tossico (5-15 g/kg)	Etanolo	8.000
	Moderatamente tossico (0,5-5 g/kg)	Cloruro di sodio Solfato ferroso Malathion Metanolo
Molto tossico (50-500 mg/kg)	Acido acetilsalicilico	300
	Acetaminofene	300
	Diazinone	200
	Fenobarbitale	150
	Imipramina	65
Estremamente tossico (5-50 mg/kg)	Teofillina	50
	Difenidramina	25
Super tossico (<5 mg/kg)	Cianuro di potassio	3
	Metotressato	3
	Stricnina	2
	Nicotina	1
	Digossina	0.2
	d-Tubocurarina	0.05
	Tetrodossina	0.01
TCDD (diossina) Tossina botulinica	0.001 0.00001	

Efficacia, Tossicità, Letalità

DE50 – Dose Efficace 50; la dose a cui il 50% della popolazione o del campione manifesta un determinato effetto; usato con curve dose risposta quantali

DT50 - Dose Tossica 50 - la dose a cui il 50% della popolazione o del campione manifesta un determinato effetto tossico

DL50 – Dose letale 50; la dose a cui si osserva nel 50% della popolazione o del campione la morte; risposta quantale

TOSSICITÀ ACUTA O IMMEDIATA

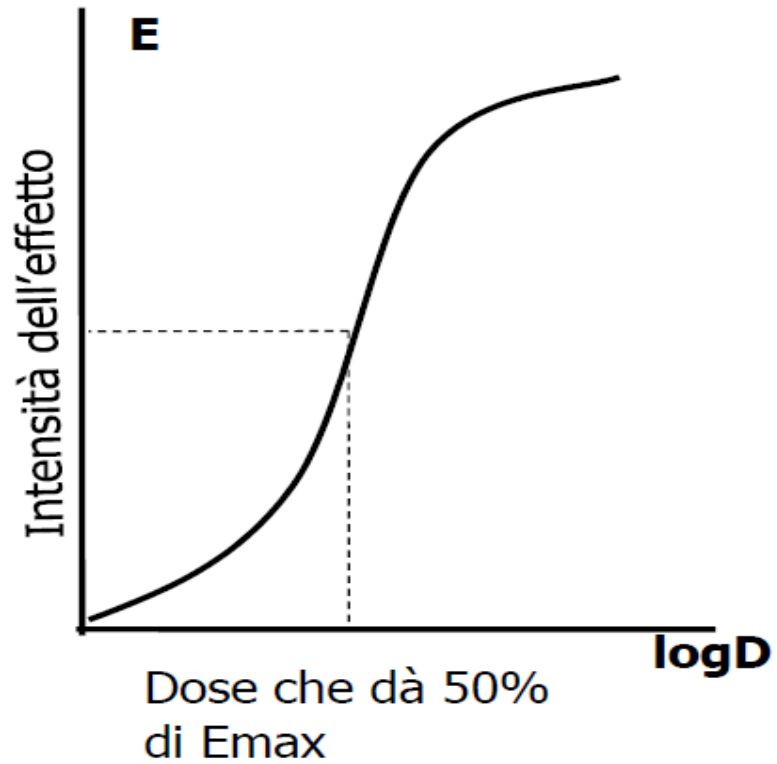
RELAZIONE DOSE - RISPOSTA

È essenziale che esista un bersaglio con cui l'agente tossico possa interagire perché la risposta tossica avvenga.

L'effetto tossico è strettamente correlato sia qualitativamente che quantitativamente alla **dose interna** (mg/kg p.c. dell'agente tossico e/o dei suoi metaboliti che raggiungono il bersaglio).

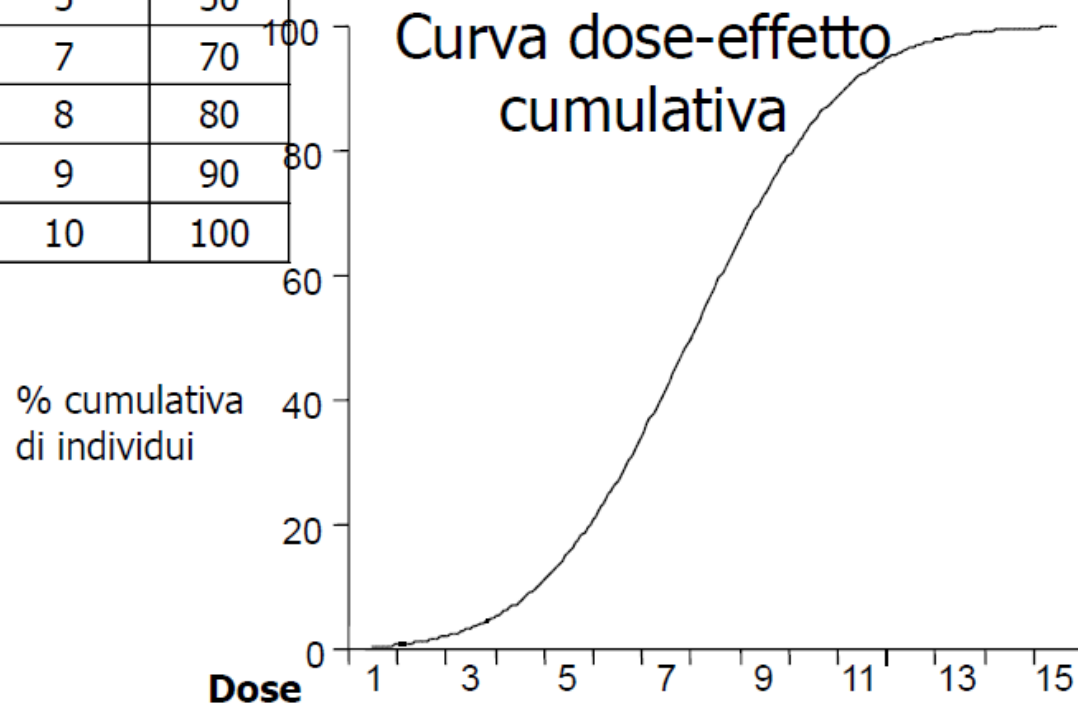
La concentrazione al bersaglio dell'agente tossico e/o dei suoi metaboliti (**dose interna**) è strettamente correlata alla **dose esterna** (mg/kg p.c. dell'agente tossico a cui l'organismo è esposto).

CURVE DOSE - EFFETTO GRADUALE



Dose	No. di individui	No. Rispondenti	% Risposta
1	10	0	0
2	10	1	10
3	10	3	30
4	10	5	50
5	10	7	70
6	10	8	80
7	10	9	90
8	10	10	100

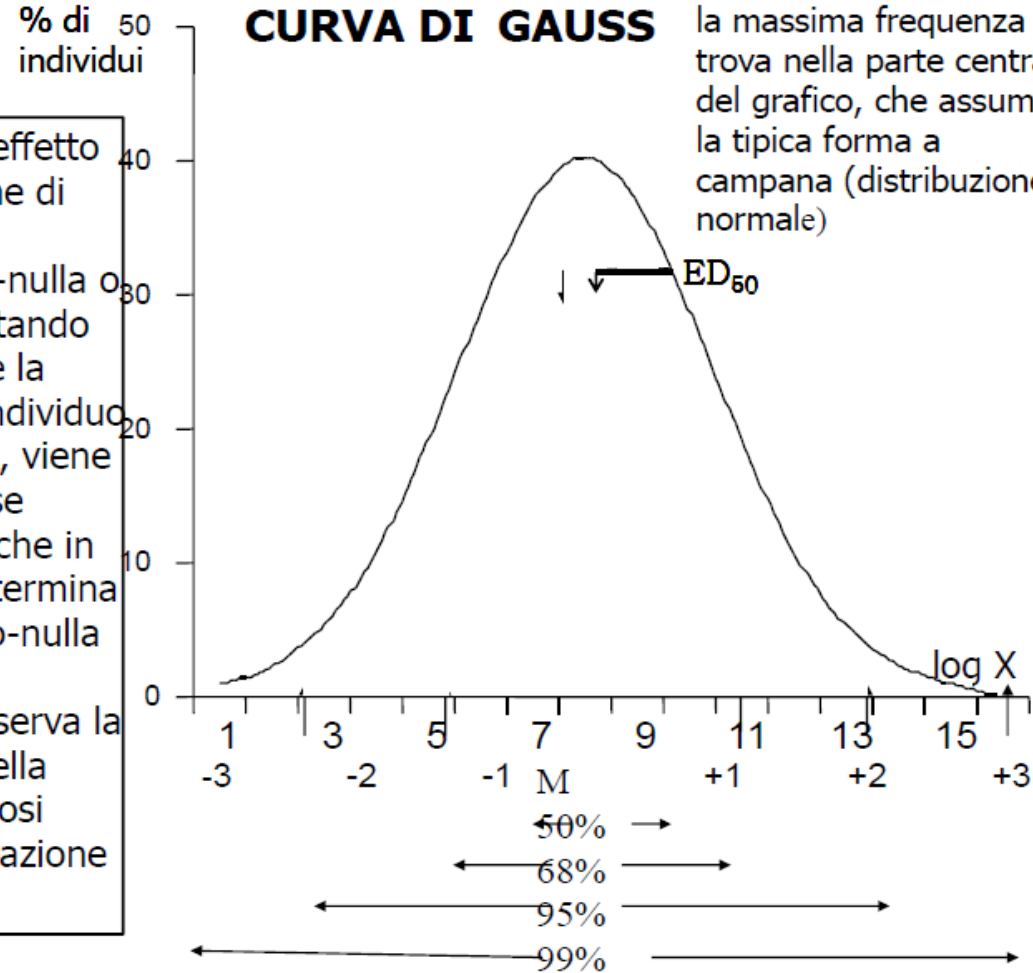
- Un modo più conveniente di esprimere la relazione quantale dose-effetto è quello di mettere in grafico la dose vs. la percentuale cumulativa dei soggetti che rispondono ad una data dose. La distribuzione normale è così trasformata in una curva **sigmoide**.

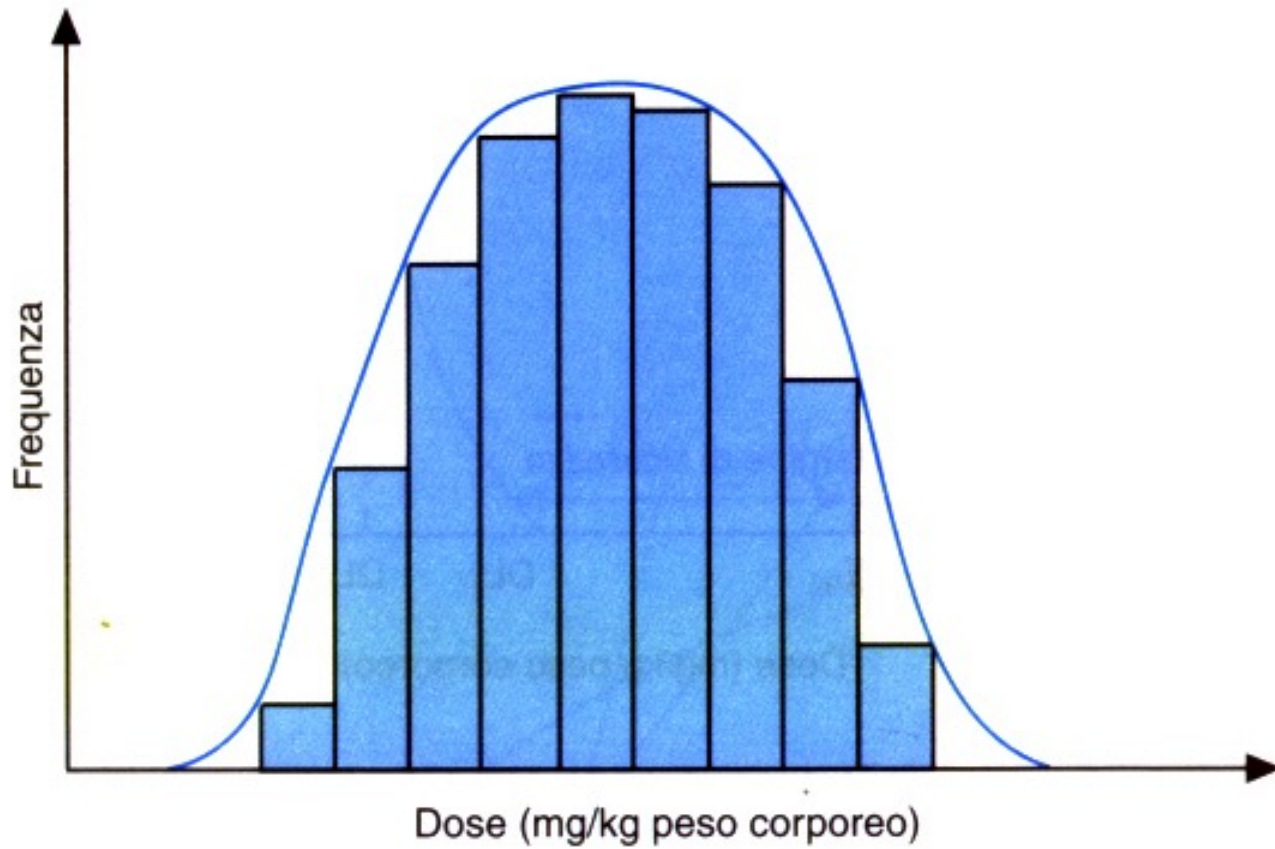


- Relazione dose-effetto in una popolazione di individui con un *endpoint* tutto-o-nulla quantale. Aumentando progressivamente la dose in ciascun individuo della popolazione, viene identificata la dose minima efficace, che in quel soggetto determina la risposta tutto-o-nulla (dose soglia).
- Nel grafico si osserva la **distribuzione** della frequenza delle dosi soglia nella popolazione esaminata.

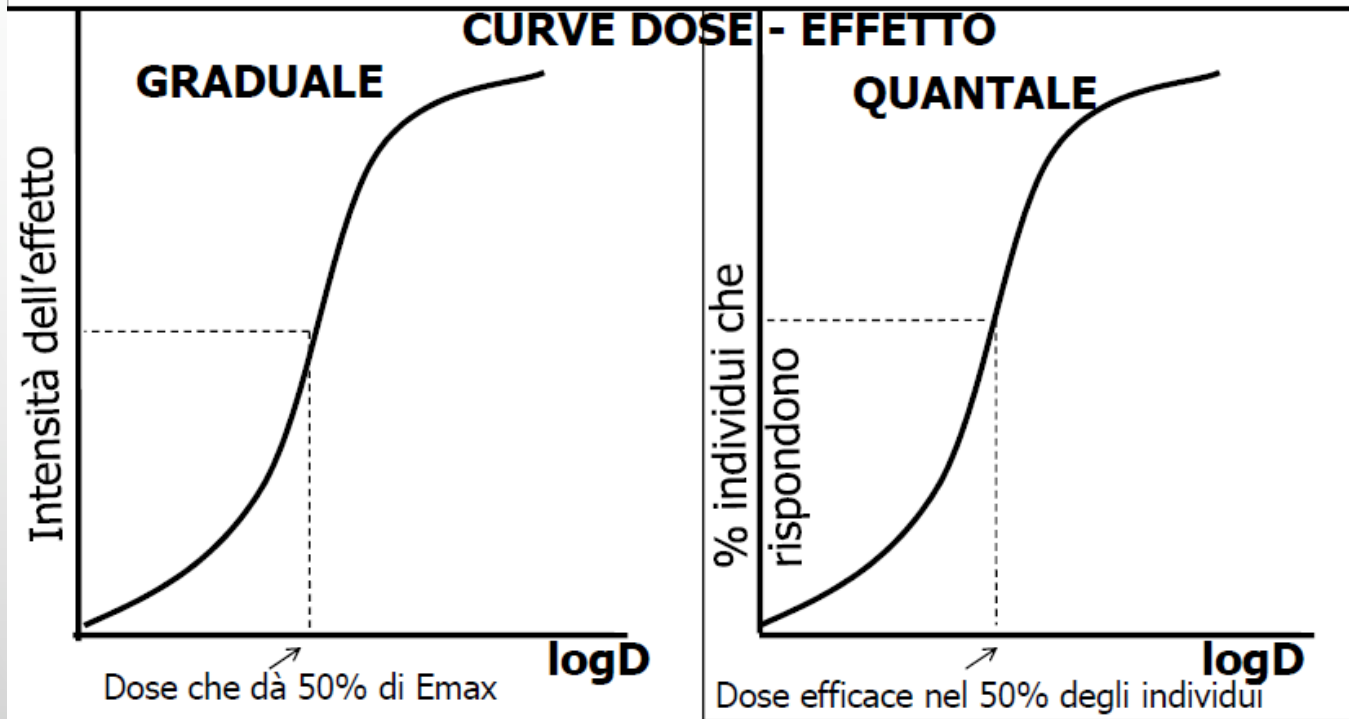
CURVA DI GAUSS

la massima frequenza si trova nella parte centrale del grafico, che assume la tipica forma a campana (distribuzione normale)





- Sebbene le curve dose-effetto quantale e graduale siano simili, esse hanno significati completamente diversi: la curva graduale esprime la relazione fra l'incremento della dose e la relativa variazione dell'effetto, mentre la curva quantale è la misura della **variazione della dose soglia necessaria per produrre un determinato effetto tutto-o-nulla** in un gruppo di individui.
- La dose efficace mediana (ED_{50}) in una curva dose-effetto quantale è la dose a cui risponde il 50% della popolazione.



$$Et_s = C_s (b)_{(t)} * R_{(n)} * AF_{(sr)}$$

Per tossicocinetica si intende le variazioni delle concentrazioni tissutali nel tempo della sostanza (tossico). Queste variazioni sono il risultato dei processi di assorbimento, distribuzione, metabolizzazione ed eliminazione della sostanza dall'organismo

Per Tossicodinamia si intendono le modifiche di tipo biochimico che la sostanza tossica determina nell'organismo

RELAZIONE CONCENTRAZIONE, TEMPO ED EFFETTO

- **L' EFFETTO DI UNO XENOBIOTICO È PROPORZIONALE ALLA SUA CONCENTRAZIONE NELL'ORGANO BERSAGLIO E, IN GENERE, AL TEMPO DI PERMANENZA NELL'ORGANO.**
- **DATO CHE LA CONCENTRAZIONE IN UN ORGANO È IN GENERE PROPORZIONALE ALLA CONCENTRAZIONE PLASMATICA, L'EFFETTO È PROPORZIONALE A QUEST'ULTIMA (CHE È MISURABILE).**
- **PER QUASI TUTTI I TOSSICI ESISTE UNA CONCENTRAZIONE MINIMA, AL DI SOTTO DELLA QUALE NON SI HA EFFETTO.**

- **IL FATTORE TEMPO: LA RELAZIONE TRA LA DURATA DELL'EFFETTO DI UN TOSSICO E LA SUA PERMANENZA NELL'ORGANISMO DIPENDE DAL MECCANISMO D'AZIONE.**
- **PER TOSSICI CHE AGISCONO LEGANDOSI REVERSIBILMENTE A RECETTORI, L' EFFETTO È CONDIZIONATO ALLA PRESENZA NELL'ORGANISMO**
(N.B. IL DANNO 'SECONDARIO' PRODOTTO PUÒ ESSERE IRREVERSIBILE).

- PER TOSSICI CHE SI LEGANO O ALTERANO **IRREVERSIBILMENTE** I RECETTORI E ALTRE MACROMOLECOLE BIOLOGICHE (ES. INIBITORI SUICIDI; METABOLITI REATTIVI), L'EFFETTO SI MANTIENE ANCHE DOPO CHE IL TOSSICO NON LEGATO È STATO ELIMINATO; L'EFFETTO PUÒ ESSERE IRREVERSIBILE ⇒ MECCANISMI DI RIPARAZIONE.
- SOSTANZE CHE MODULANO L'ESPRESSIONE GENICA (LEGANDOSI AI RECETTORI PER I FATTORI DI CRESCITA E I RECETTORI INTRACELLULARI): IL LORO EFFETTO PERDURA ANCHE DOPO CHE IL TOSSICO È STATO ELIMINATO.

Meccanismo d'azione

Meccanismo d'azione: la risposta tossicologica può essere recettoriale e non recettoriale.

La risposta recettoriale prevede l'interazione della sostanza con il recettore e tutti quei meccanismi che portano alla manifestazione degli effetti.

La risposta non recettoriale (di tipo aspecifico) si ha quando gli effetti sono da ascrivere a meccanismi diversi da quelli recettoriali

L'esposizione a dosi tossiche di una sostanza chimica può determinare alterazioni omeostatiche locali o sistemiche.

1) Le azioni tossiche locali si osservano nella zona di contatto tra sostanza tossica e l'organismo (cute, mucose, ecc) possono portare infiammazione e/o necrosi locale.

2) Le azioni tossiche sistemiche sono causate quando la sostanza viene assorbita, si distribuisce nell'organismo e raggiunge concentrazioni efficienti in alcuni tessuti, dove sono presenti recettori specifici, manifestando effetti di tipo generale.

- **Le azioni tossiche sistemiche possono essere classificate in funzione dell'organo coinvolto in maniera prevalente (anche se gli effetti sono di tipo generali).**

Neurotossicità

Cardiotossicità

Epatotossicità

Nefrotossicità

immunotossicità

ETC

La tossicità sistemica può essere sostenuta da meccanismi recettoriali o non recettoriali

N.B. Il concetto di recettore in tossicologia non è limitato a quei complessi macromolecolari che mediano gli effetti ad es. neurotrasmettitori, ormoni e fattori trofici, ma è esteso ad ogni struttura molecolare capace di legare il tossico e che, da questo suo legame, subisca un'alterazione della sua normale funzione

REAZIONI DEL TOSSICO CON LA MOLECOLA BERSAGLIO

Tipi di Reazioni:

Legame non covalente – interazioni apolari o ponti idrogeno o ionici (recettori di membrana ecc.)

Legame covalente – ALTERAZIONI PERMANENTE DELLE MOLECOLE ENDOGENE

Sottrazione di idrogeno – conversione in radicali

Trasferimento di elettroni – ossidare o ridurre le molecole (Fe ++)

Reazioni enzimatiche

Gli insetticidi organofosforici riconoscono nel sito esterasico della proteina enzima acetilcolinaesterasi, il recettore per l'effetto tossicologico

L'eccessivo accumulo di Ach a livello sinaptico è causa di una grave intossicazione caratterizzata da una profonda distorsione della funzione S.N.C. e periferico.

I glicosidi digitalici si legano al gruppo di isoenzimi indicati come Na^+/K^+ ATPasi

L' inibizione di questa attività enzimatica determina accumulo intracellulare di ioni Ca^{2+} e di altre cariche positive che sono responsabili dell'aumento della forza di contrazione (inotropismo positivo) e dell'eccitabilità (effetto batmotropo positivo)

L' intossicazione da digitalici (tachiaritmia fino alla fibrillazione ventricolare) può essere quindi ricondotta ad un meccanismo recettoriale

Meccanismo d' azione di tipo non recettoriale

I radicali liberi sono un esempio di sostanze tossiche che agiscono con meccanismo non recettoriale

Sono molecole estremamente reattive per la presenza di un elettrone spaiato nell'orbitale esterno

Sono responsabili della lipoperossidazione e di alterazioni aspecifiche della permeabilità delle membrane cellulari; possono reagire con le proteine denaturandole ed anche intercalarsi con gli acidi nucleici

cancerogenesi

I metalli (arsenico, mercurio, etc.) riconoscono i gruppi sulfidrilici delle proteine come recettori responsabili della loro azione tossica

I metalli riconoscono anche un meccanismo di tossicità non recettoriale, piu' aspecifico che riguarda:

1) L' alterazione della fluidità delle membrane cellulari

**2) La modificazione della struttura degli acidi nucleici
→ cancerogenesi (piombo, cadmio, etc.)**

Fattori relativi all' individuo

La risposta tossicologica può essere influenzata da molti fattori relativi all' individuo:

- 1) I fattori genetici**
- 2) La specie**
- 3) Il sesso**
- 4) L' età**
- 5) Le condizioni patologiche**
- 6) L' induzione/inibizione degli enzimi del CIT 450**

I) I fattori genetici

I livelli di espressione di alcuni degli enzimi che metabolizzano xenobiotici e farmaci, sono sotto controllo genetico: quindi la velocità di metabolizzazione (livelli plasmatici, durata d'azione) varia tra individui che esprimono questi enzimi in modo diverso

Esempi di alcuni enzimi:

- a) Pseudocolinesterasi**
- b) Acetiltransferasi**
- c) Idrossilasi**

2) La specie

La risposta tossicologica è dipendente dalla specie

Le differenze possono essere imputate, nell'ambito della stessa specie, a :

a) Motivi metabolici: variazione dell'efficienza dell'eliminazione, del legame con le proteine plasmatiche o tissutali

b) Motivi dinamici: tipi di recettori espressi, diversa sensibilità dell'organo bersaglio

3) Il sesso:

La risposta tossicologica è influenzata dal sesso perché gli enzimi che metabolizzano i farmaci e gli xenobiotici sono sotto controllo degli ormoni sessuali

4) L'età

La cinetica dei farmaci e degli xenobiotici è diversa nelle varie età della vita

Le differenze osservate possono essere a carico di qualunque fase della cinetica

5) Le condizioni patologiche

Il digiuno, cioè uno stato di nutrizione non adeguato, è in grado di ridurre la capacità di detossificazione dell'organismo

Patologie che compromettono la funzionalità epatica o renale modificano la risposta tossicologica riducendo la detossificazione epatica e ritardando l'escrezione renale

La ridotta filtrazione glomerulare aumenta la vita media plasmatica di molti antibiotici

6) L'attività degli enzimi microsomiali epatici

L'induzione (aumento della sintesi enzimatica) degli enzimi microsomiali epatici da parte di sostanze (IPA, fenobarbitale, etc.), diminuisce la tossicità delle sostanze che vengono inattivate mediante ossidazione oppure aumenta la tossicità di quelle che vengono attivate mediante ossidazione.

L'inibizione enzimatica (diminuzione della sintesi enzimatica) dovuta a farmaci o sostanze aumenta o diminuisce l'effetto delle sostanze potenzialmente tossiche

La risposta tossicologica e fattori relativi al tempo di contatto con la sostanza tossica

La durata del contatto con la sostanza tossica permette la distinzione tra:

1) Intossicazione cronica: deriva da ripetute esposizioni alla sostanza tossica per un periodo di tempo più o meno prolungato. Tale esposizione comporta un accumulo nell'organismo della sostanza quando la quantità assorbita supera la capacità di detossificazione e di escrezione

2) Intossicazione acuta: deriva dall'assorbimento rapido di dosi elevate di una sostanza tossica. Si può avere una rapida evoluzione del quadro clinico verso l'exitus o la guarigione.