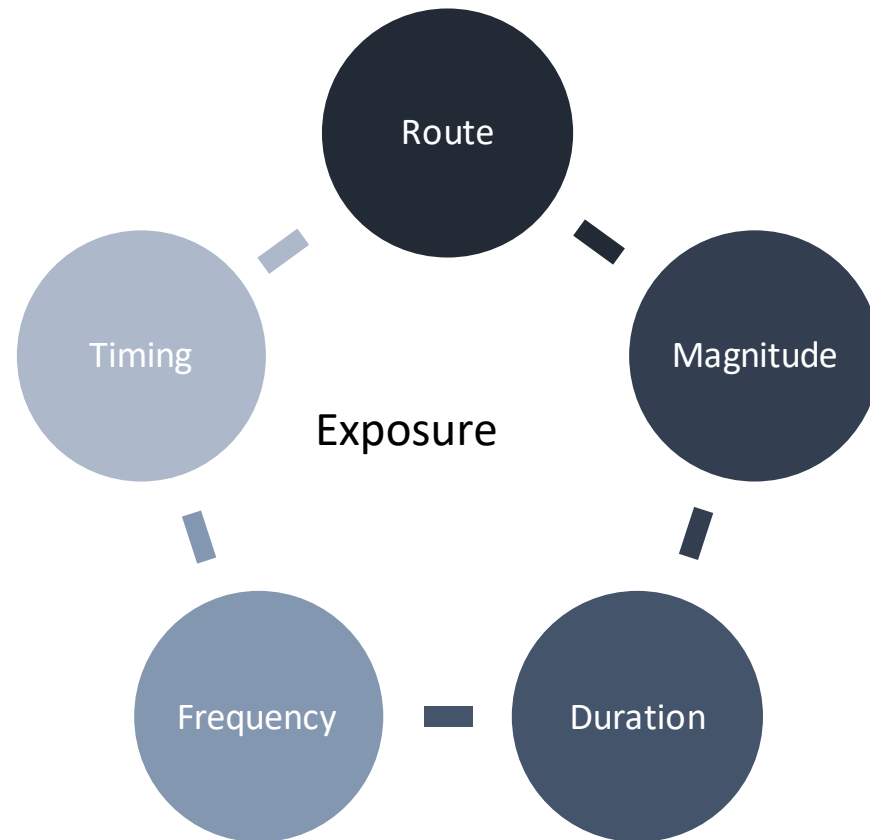


# STUDI PRECLINICI DI FASE II

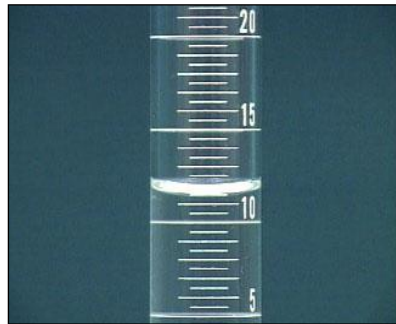
# Importance of the Exposure Scenario

Exposures in animal toxicology studies are characterized by:



# Exposure

- In order for a chemical to produce a biological effect, it must first reach a target individual (**exposure pathway**).
- Then the chemical must reach a target site within the body (**toxicokinetics**).
- Toxicity is a function of the effective **dose (how much)** of a foreign chemical (xenobiotic) **at** its target site, integrated over **time (how long)**.



**X**

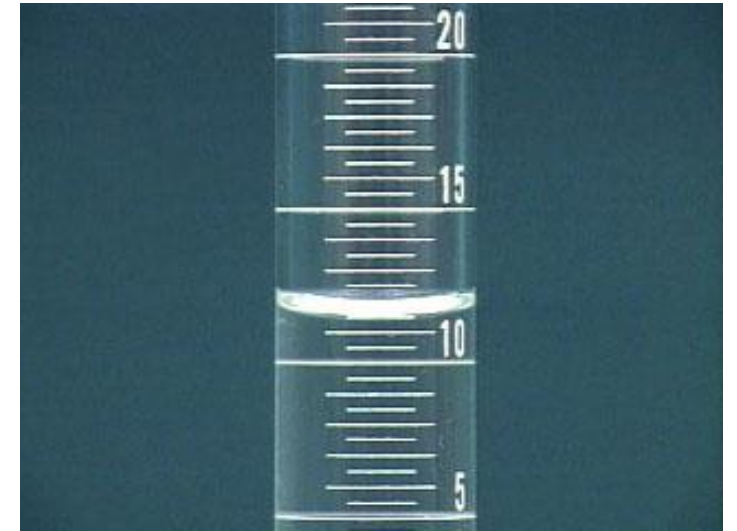


**=**



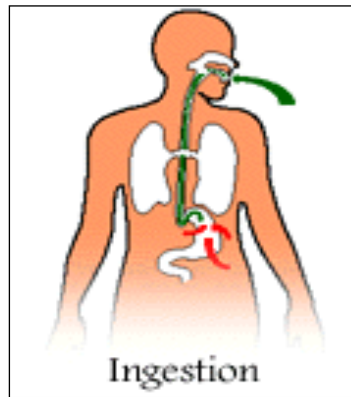
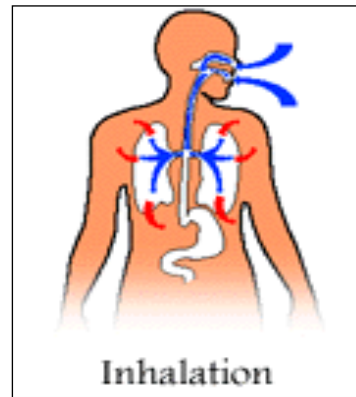
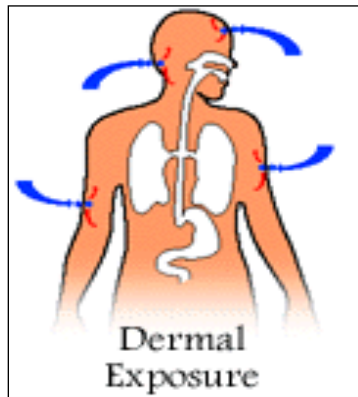
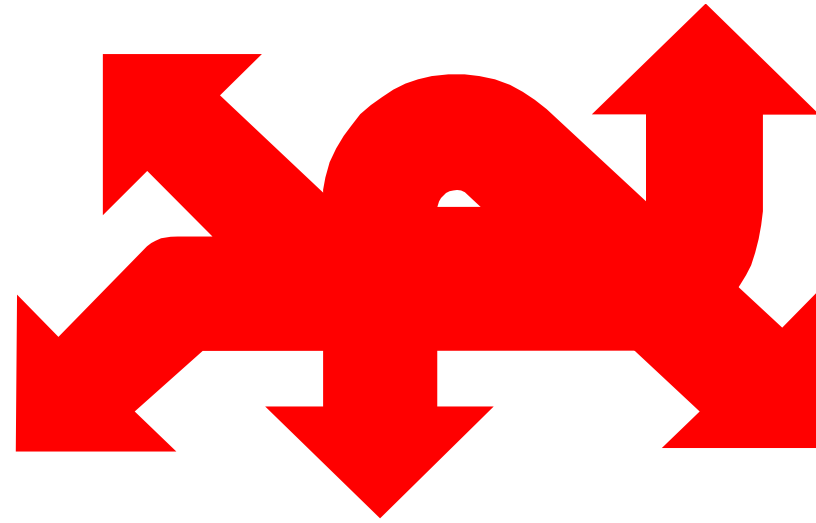
# ESPOSIZIONE

- Per produrre un effetto tossico una sostanza chimica deve raggiungere il recettore bersaglio (**exposure pathway**).
- Quindi per legarsi al recettore deve entrare nell'organismo e sarà soggetta ad una serie di trasformazioni (**toxicokinetics**).
- La tossicità è in funzione della concentrazione della sostanza somministrata nella biofase e sarà funzione del tempo.



# MAIN ROUTES OF EXPOSURE

- Inhalation
- Ingestion
- Skin contact
- Injection



- The route of exposure may be important if there are tissue-specific toxic responses.
- Toxic effects may be local or systemic

## VIE DI SOMMINISTRAZIONE DEI FARMACI

### ➤ VIE ENTERALI (NATURALI)

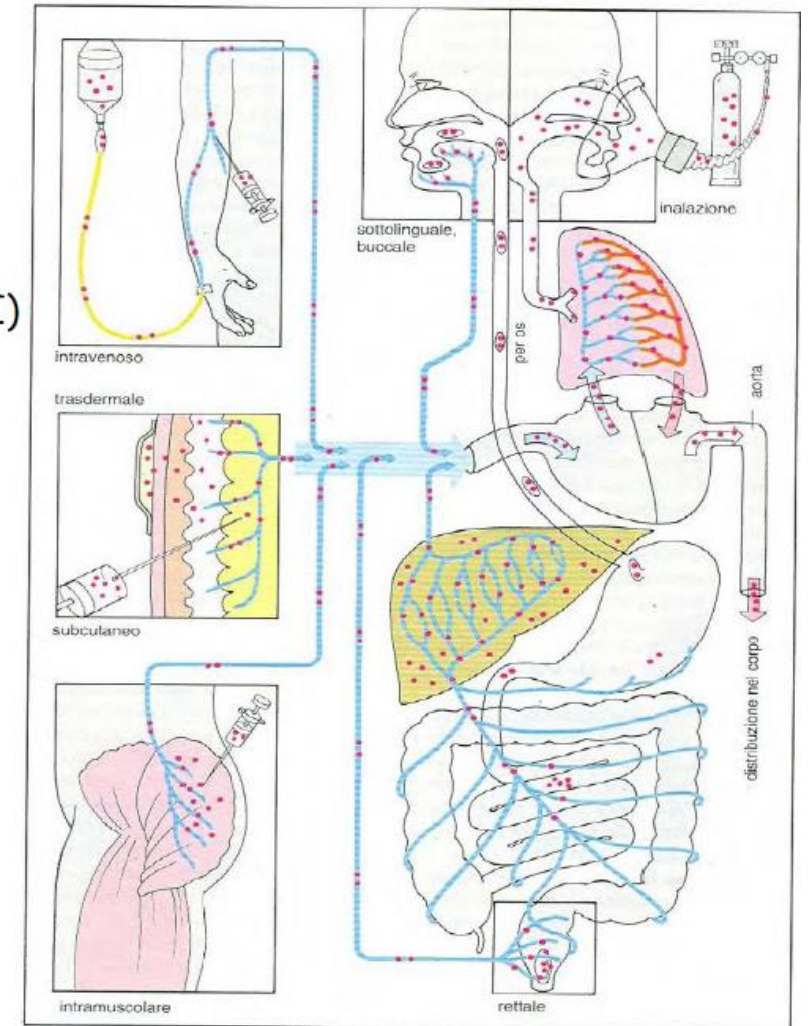
- gastro-intestinale (orale)
- sublinguale
- rettale

### ➤ VIE PARENTERALI (MUCOSE ACCESSIBILI)

- inalatoria
- percutanea
- oculare, nasale, vaginale

### ➤ VIE PARENTERALI INIETTIVE

- sistemiche
  - ✓ Endovenosa
  - ✓ intramuscolare
  - ✓ sottocutanea (intradermica)
- locali
  - ✓ endoarteriosa, intracardiaca, intraarticolare, intratecale, intrapleurica, intraperitoneale



# Fattori relativi all'esposizione: via di esposizione

---

L'ordine di tossicità è: **endovenosa** (effetti maggiori e risposte più rapide), inalatoria, intraperitoneale, sottocutanea, intramuscolare, intradermica, orale, cutanea (piretrine/piretroidi).

Il *veicolo* nonché la velocità alla quale avviene l'esposizione, possono alterare l'assorbimento del tossico e influenzarne gli effetti tossici (spt nel caso di ingestione, inalazione o esposizione topica).

L'esposizione professionale avviene nella maggior parte dei casi per via inalatoria e/o per prolungato contatto con la pelle mentre gli avvelenamenti accidentali avvengono più frequentemente per ingestione orale.



# Fattori relativi all'esposizione: via di esposizione

Il confronto tra le DL di un agente chimico somministrato attraverso vie diverse fornisce informazioni utili sul suo assorbimento.

Quando la dose letale per OS o dermica è simile a quella per via IV l'agente tossico si assorbe facilmente e rapidamente. Al contrario quando la DL per via dermica è di alcuni ordini di grandezza più alta di quella orale si può concludere che la pelle rappresenta una barriera efficace per il suo assorbimento.

Negli studi di tossicità acuta di farmaci si utilizzano due vie, di cui una è quella prevista nell'uomo (orale, inalatoria, cutanea) ed una che assicura assorbimento completo (parenterale). Negli studi di tossicità prolungata e cronica si usa quasi sempre la via orale.



# Esposizione

## Time of Exposure

- **How long** an organism is exposed to a chemical is important

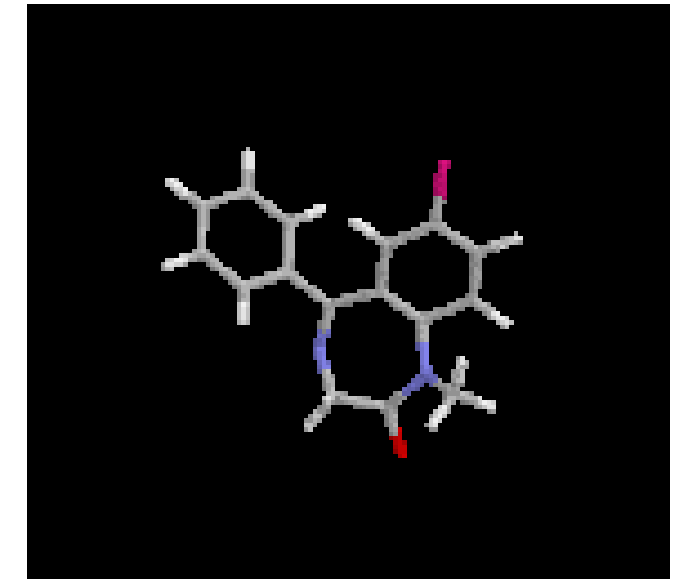
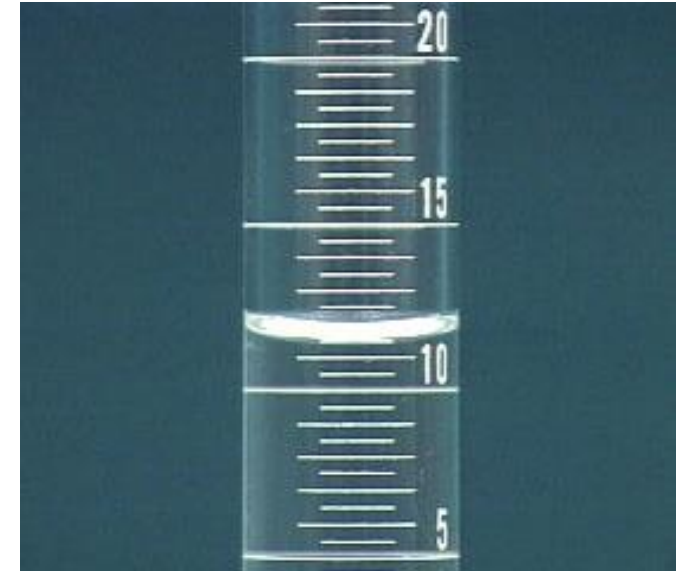
**Duration and frequency** contribute to **dose**. Both may alter toxic effects.

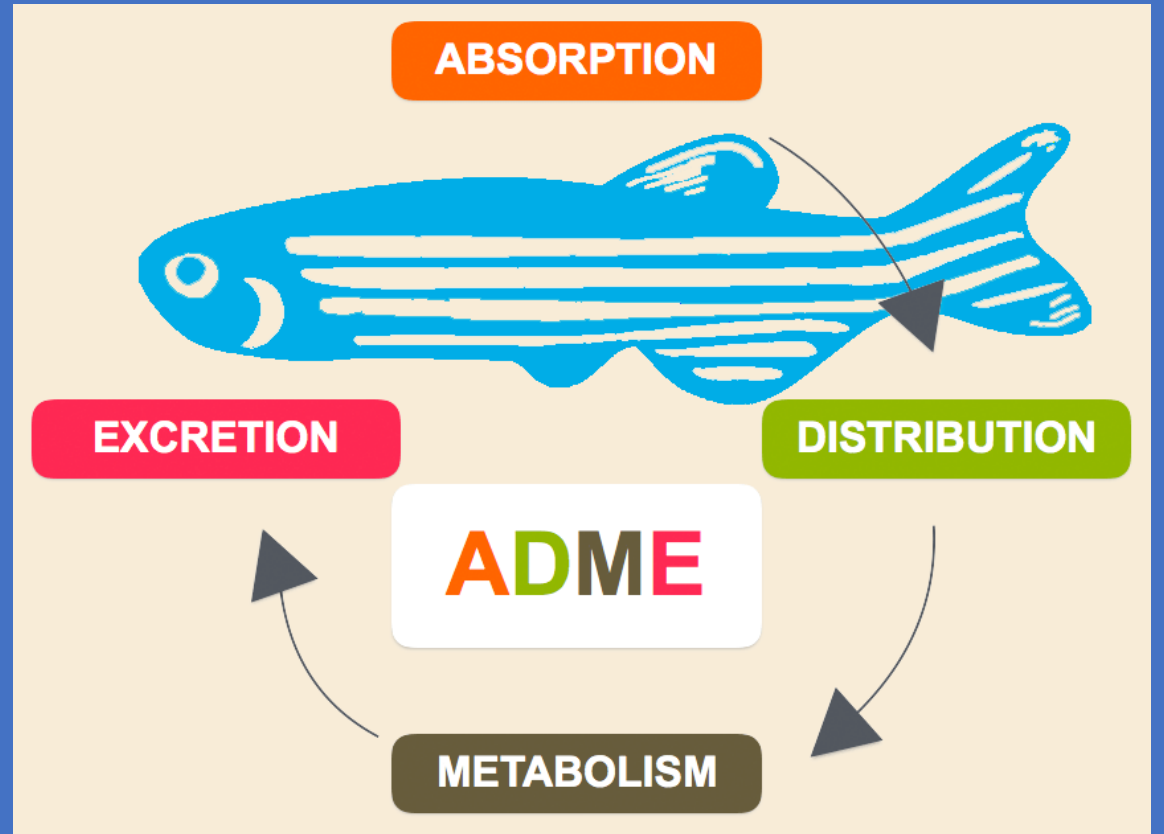
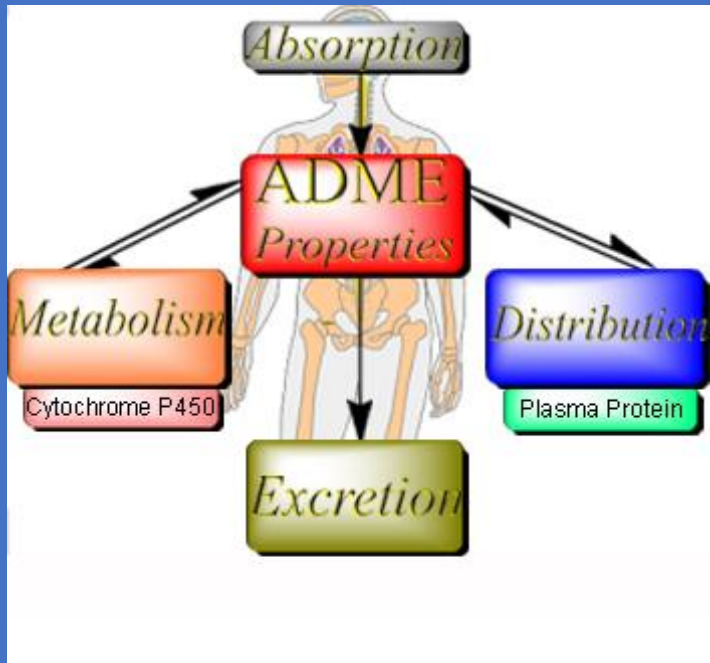
- **Acute Exposure** = usually entails a single exposure
- **Chronic Exposures** = multiple exposures over time (frequency)



# Dose

- The magnitude of the toxic response is proportional to the concentration (how much) of the chemical at the **target site**.
- The concentration of a chemical at the target site is **proportional to** the dose.
- **Four** important processes control the amount of a chemical that reaches the target site.
  - **Absorption**
  - **Tissue distribution**
  - **Metabolism**
  - **Excretion**

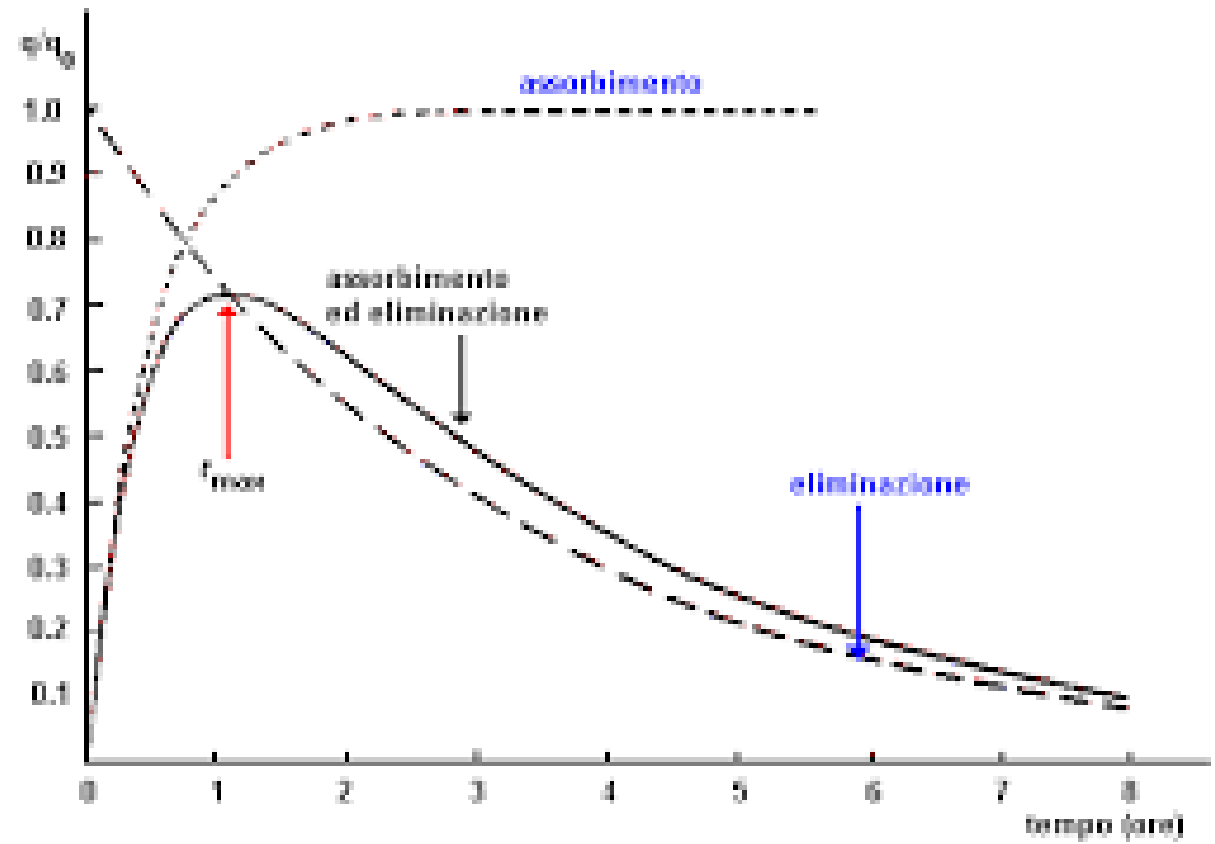
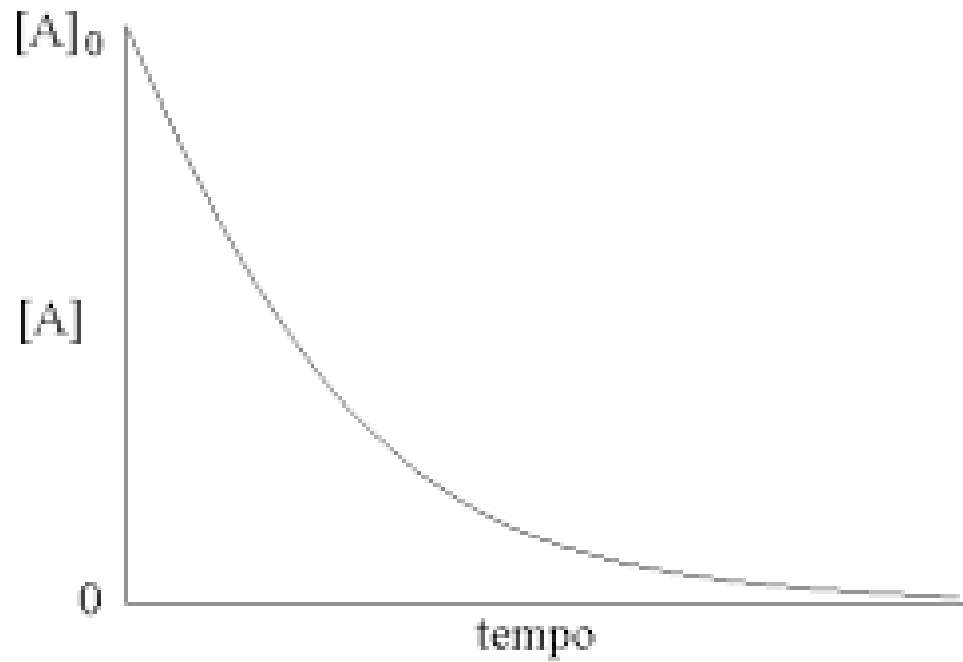




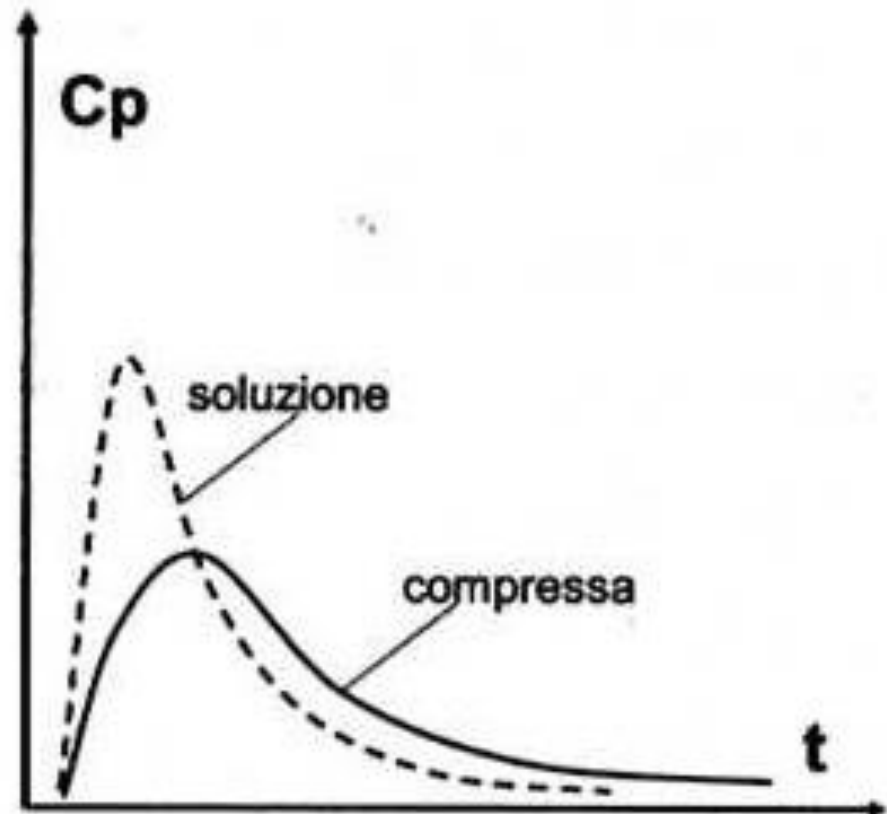
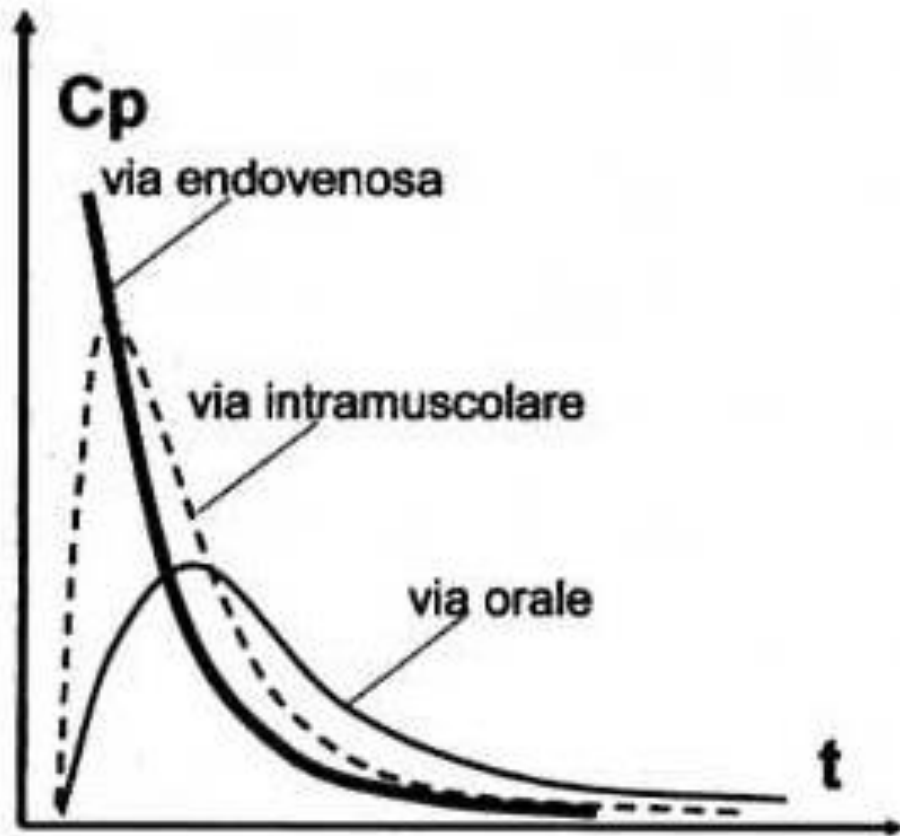
# *FARMACOCINETICA: ADME*

- **ASSORBIMENTO:** processo attraverso il quale il farmaco passa dal sito di somministrazione al circolo sanguigno
- **DISTRIBUZIONE:** processo attraverso il quale il farmaco viene distribuito dal circolo sanguigno ai tessuti e/o organi
- **METABOLISMO:** il farmaco deve essere trasformato da attivo in inattivo, da lipofilo a idrofilo
- **ELIMINAZIONE:** il farmaco deve essere eliminato

# ASSORBIMENTO

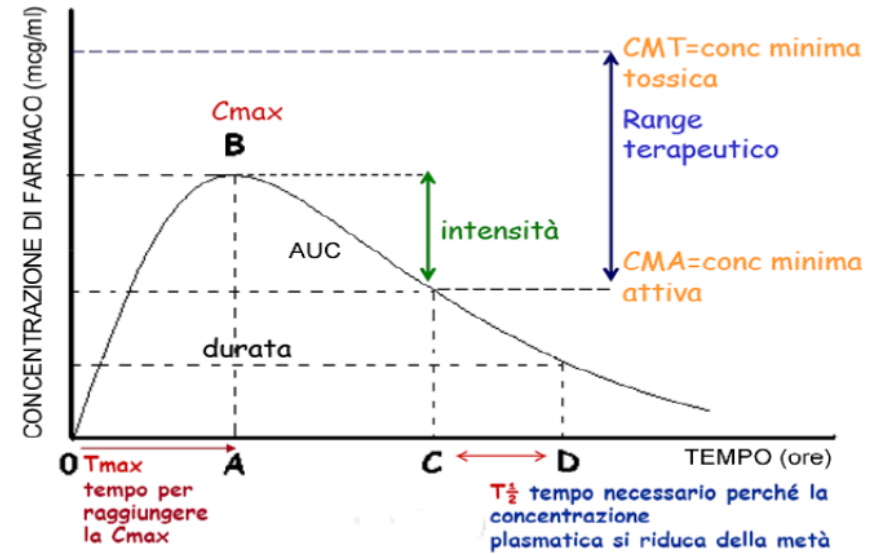


# ASSORBIMENTO



# PARAMETRI FARMACOCINETICI

- La **BIODISPONIBILITÀ** viene definita come
- la quota di farmaco che, attraverso una data via di somministrazione, raggiunge immutato il circolo sistemico.
- Si calcola misurando le aree sotto la curva dei grafici relativi alle somministrazioni



$C_{max}$ : concentrazione massima

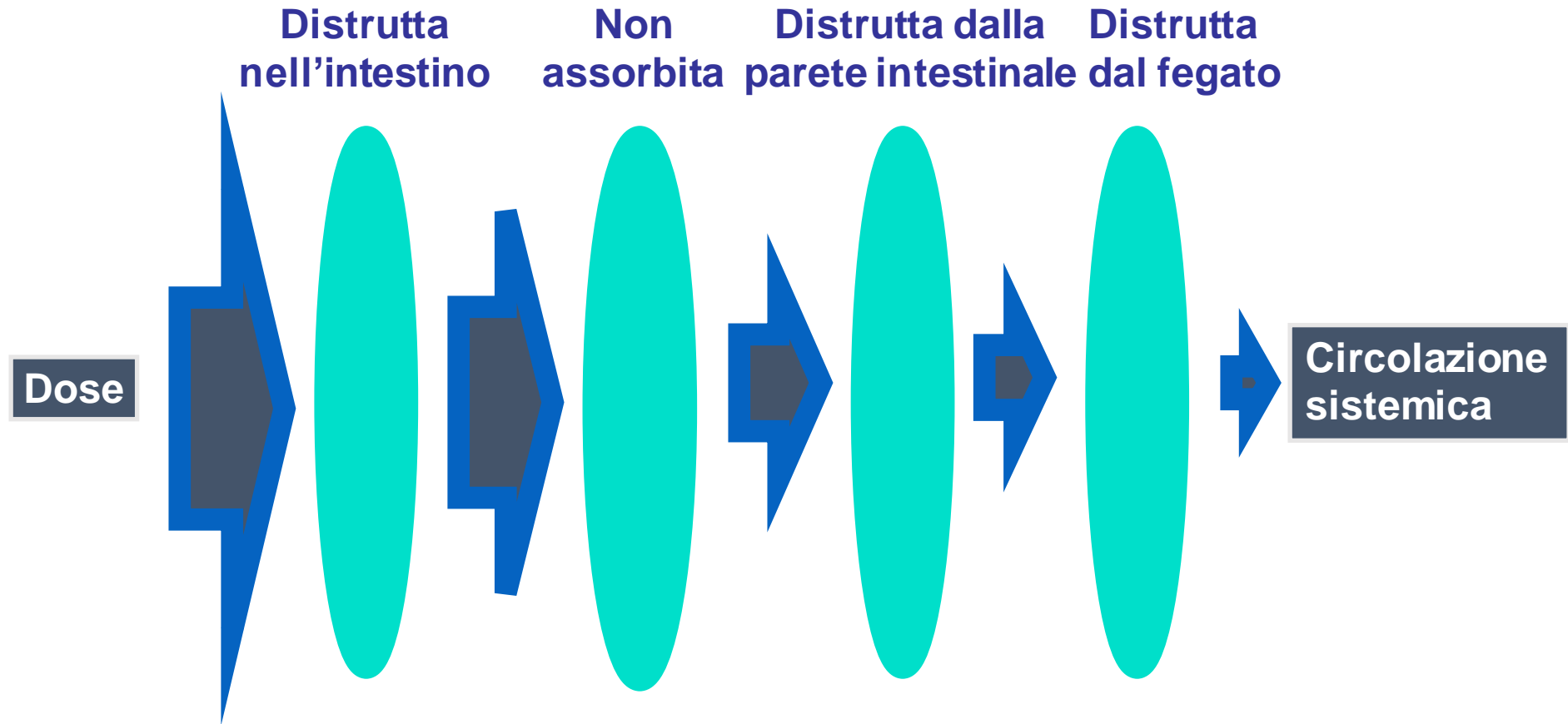
$T_{max}$ : tempo per raggiungere la  $C_{max}$

AUC (area sotto la curva): misura la quantità di farmaco immutato che raggiunge la circolazione sistemica dopo somministrazione di una determinata dose, ed è direttamente proporzionale alla quantità di farmaco assorbito

Biodisponibilità: F o %

Emivita o  $T_{1/2}$ : tempo necessario perché la concentrazione plasmatica (all'equilibrio di distribuzione) si riduca della metà.

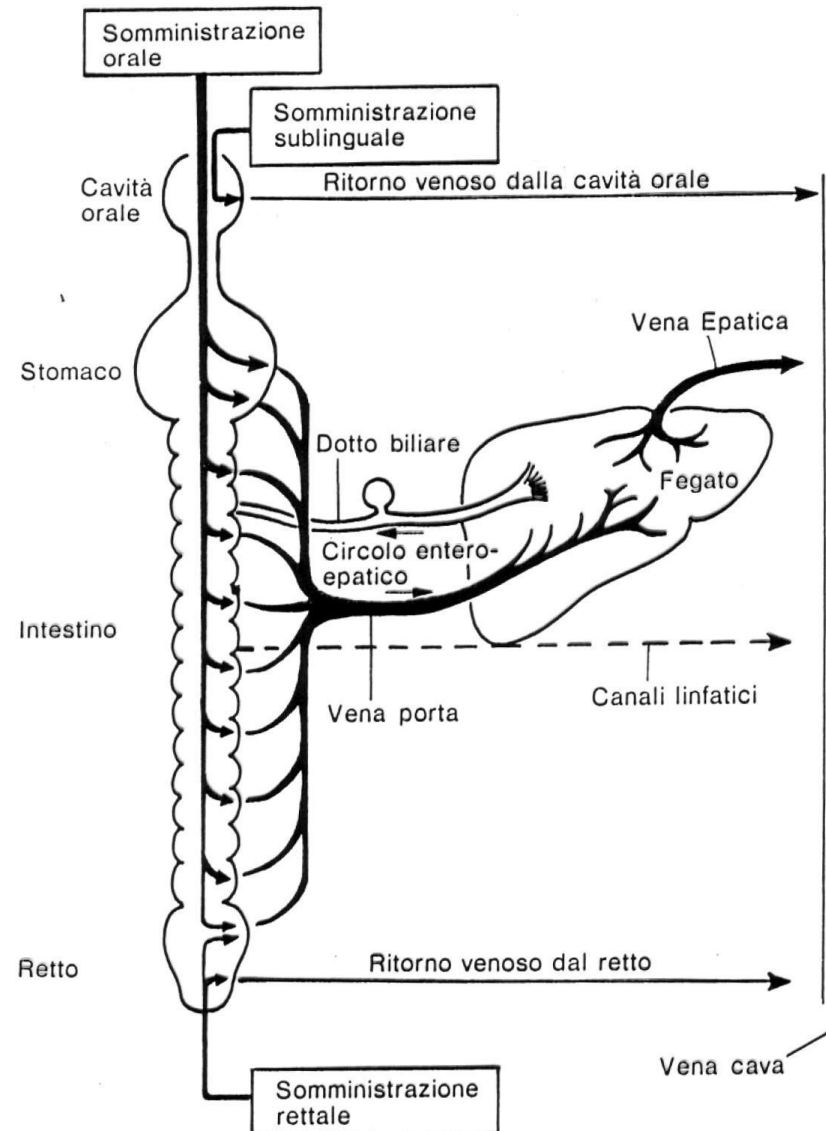
# Biodisponibilità





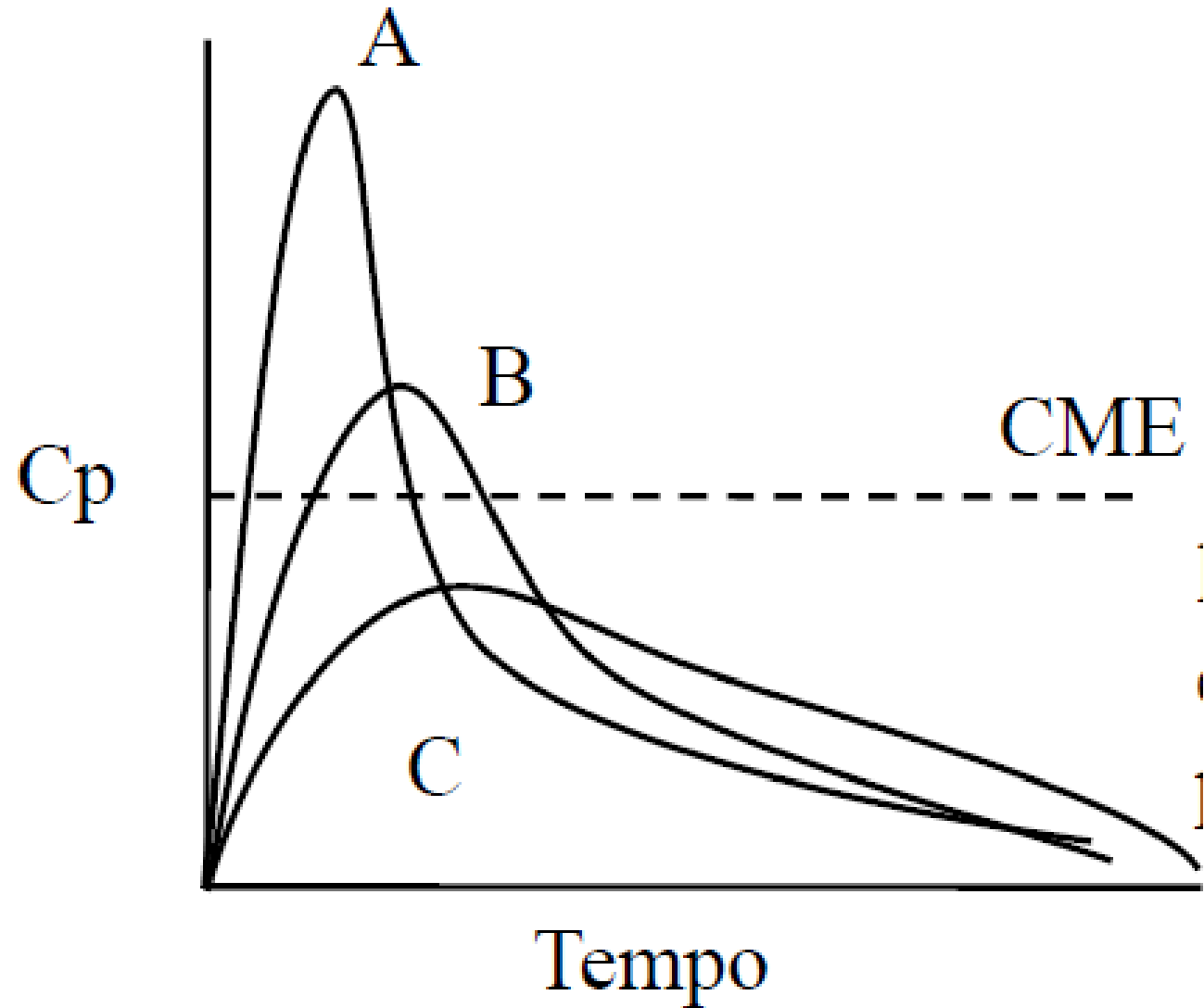
# FATTORI CHE INFLUENZANO LA BIODISPONIBILITA'

- PERFUSIONE E AREA
- EFFETTO DEL pH GASTRICO
- VELOCITA DI SVUOTAMENTO GASTRICO
- VELOCITA DI TRANSITO
- EFFETTO DI PRIMO PASSAGGIO



Stesso farmaco  
somministrato per  
diverse vie  
presenta una  
biodisponibilità  
differente

Stessa velocità di  
eliminazione ma  
differente velocità di  
assorbimento

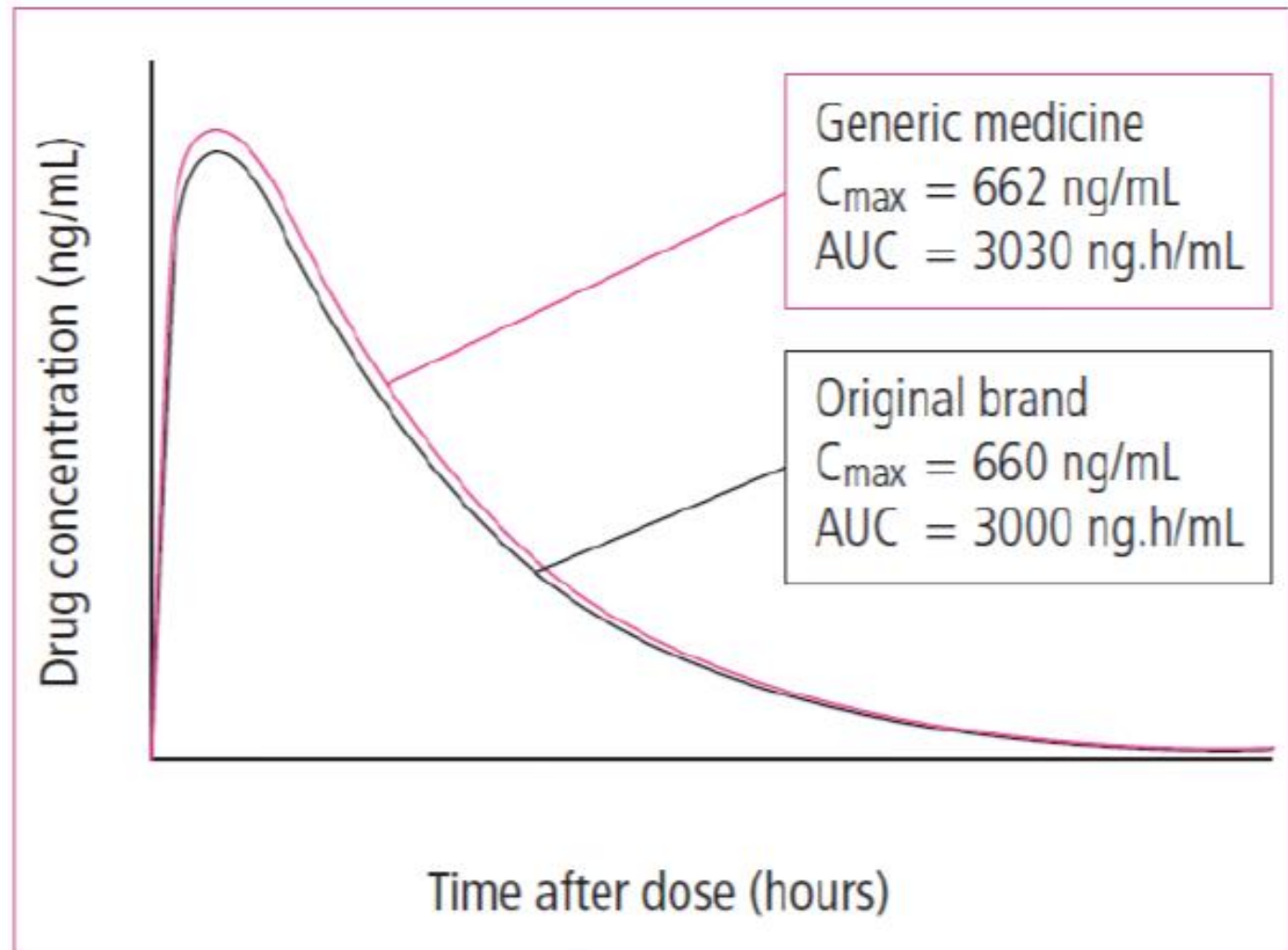


CME = concentrazione minima efficace

# DIVERSA BIODISPONIBILITA' COMPORTA UNA MANCANZA DI EQUIVALENZA TERAPEUTICA

BIOEQUIVALENZA DEI FARMACI SI MISURA CONFRONTANDO LE CURVE  
DERIVANTI DALLA CINETICA

# BIOEQUIVALENZA DEI FARMACI



$C_{max}$  = peak plasma concentration    AUC = area under the concentration–time curve

*NPS News 2006;44:3.*

SOMMINISTRAZIONE PER OS

# STUDI DI BIOEQUIVALENZA

- La bioequivalenza di diverse preparazioni farmaceutiche si misura confrontando le rispettive curve tempo-concentrazione plasmatica
- 2 farmaci sono bioequivalenti se sono equivalenti farmaceutici (stessa quantità di principio attivo, stessa forma farmaceutica, standard di qualità identici, stessa via di somministrazione possibilità di avere eccipienti diversi)

Condizione necessaria e sufficiente perché due preparazioni farmaceutiche, chimicamente equivalenti, possano essere definite anche bioequivalenti, è che esse abbiano  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  e AUC uguali.

# STUDI DI BIOEQUIVALENZA

---

I test di bioequivalenza consistono nel dimostrare che le differenze di biodisponibilità tra due prodotti essenzialmente simili non superino un certo range di variabilità ritenuto compatibile con l'equivalenza terapeutica.

**Tale intervallo è fissato per convenzione internazionale nel range  $\pm 20\%$  se si considera la media dei rapporti tra le AUC (o  $C_{max}$ ).**

Il valore  $\pm 20\%$  è stato scelto perché i fenomeni biologici sono variabili, infatti due unità posologiche dello stesso farmaco, somministrate a due differenti soggetti o in diversi momenti, danno curve di biodisponibilità differenti entro un range del  $\pm 20\%$ .

**Bioequivalenza:** è un requisito imposto dalla FDA e dalla EMA per i saggi *in vitro* e/o *in vivo* per definire nuove forme farmaceutiche. Per l'introduzione sul mercato tale requisito deve essere soddisfatto.

- Le linee guida indicano che la biodisponibilità del farmaco testato può essere accettata se l'intervallo di confidenza al 90% per la media dei rapporti tra le C<sub>max</sub> e AUC è compreso tra 0,80 e 1,25 di quello del farmaco brevettato ritenuto compatibile con l'equivalenza terapeutica
- Le linee guida dell'EMA stabiliscono, inoltre, che in specifici casi di finestra terapeutica ristretta, l'intervallo accettato potrebbe essere ridotto.

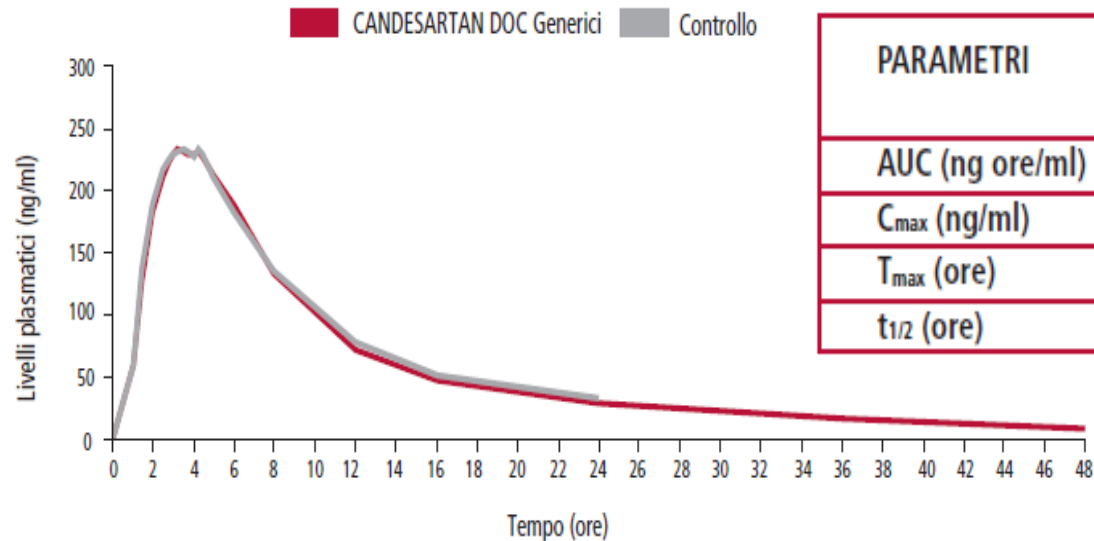


# Valutazione della bioequivalenza di CANDESARTAN DOC Generici 32 mg compresse rispetto al farmaco originatore (Controllo).

(REGULATORY FILE)

## Esempi

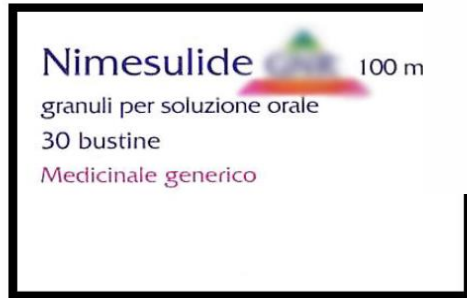
|  |   |
|--|---|
| SPERIMENTATORE<br>SEDE DELLE SPERIMENTAZIONI | Denis Audet, MD<br>Anapharm, Québec, Canada   |
| TRATTAMENTI                                  | CANDESARTAN DOC Generici<br>32 mg compresse (1 compressa)<br>Controllo<br>32 mg compresse (1 compressa) |
| DISEGNO DELLO STUDIO                         | Randomizzato, crossover   |
| NUMERO DI SOGGETTI TRATTATI                  | 34 volontari sani   |



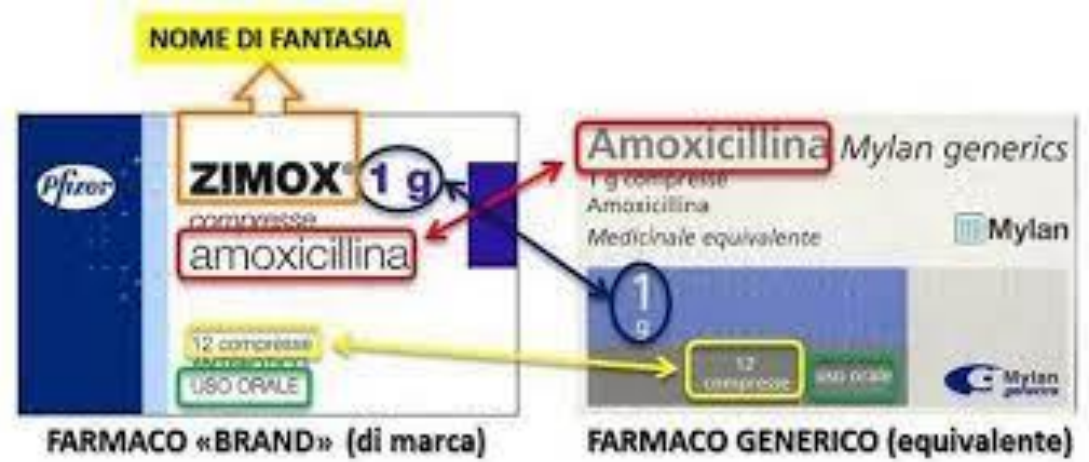




Costo: 4.43 euro



Costo: 2.36 euro



# FARMACI BIOEQUIVALENTI

PERCHE'  
COSTANO  
MENO ?

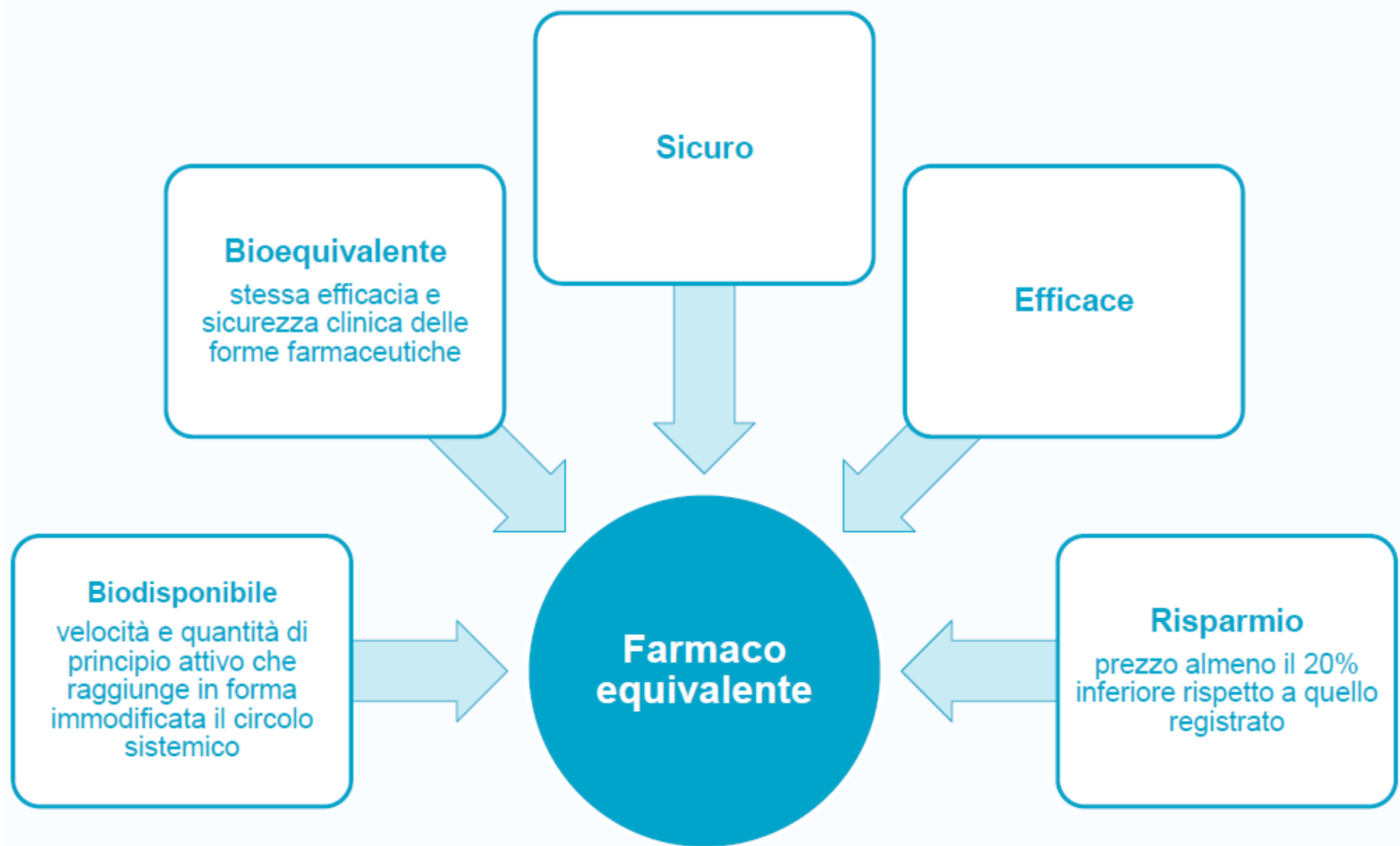


# TEMPI E COSTI INFERIORI

---

L'azienda che mette in commercio un medicinale generico, invece, è **esentata dalla dimostrazione dell'efficacia terapeutica** in quanto, se il principio attivo raggiunge nel sangue gli stessi livelli ottenuti dal medicinale originatore (se è cioè bioequivalente a questo), presenta anche la stessa efficacia terapeutica.

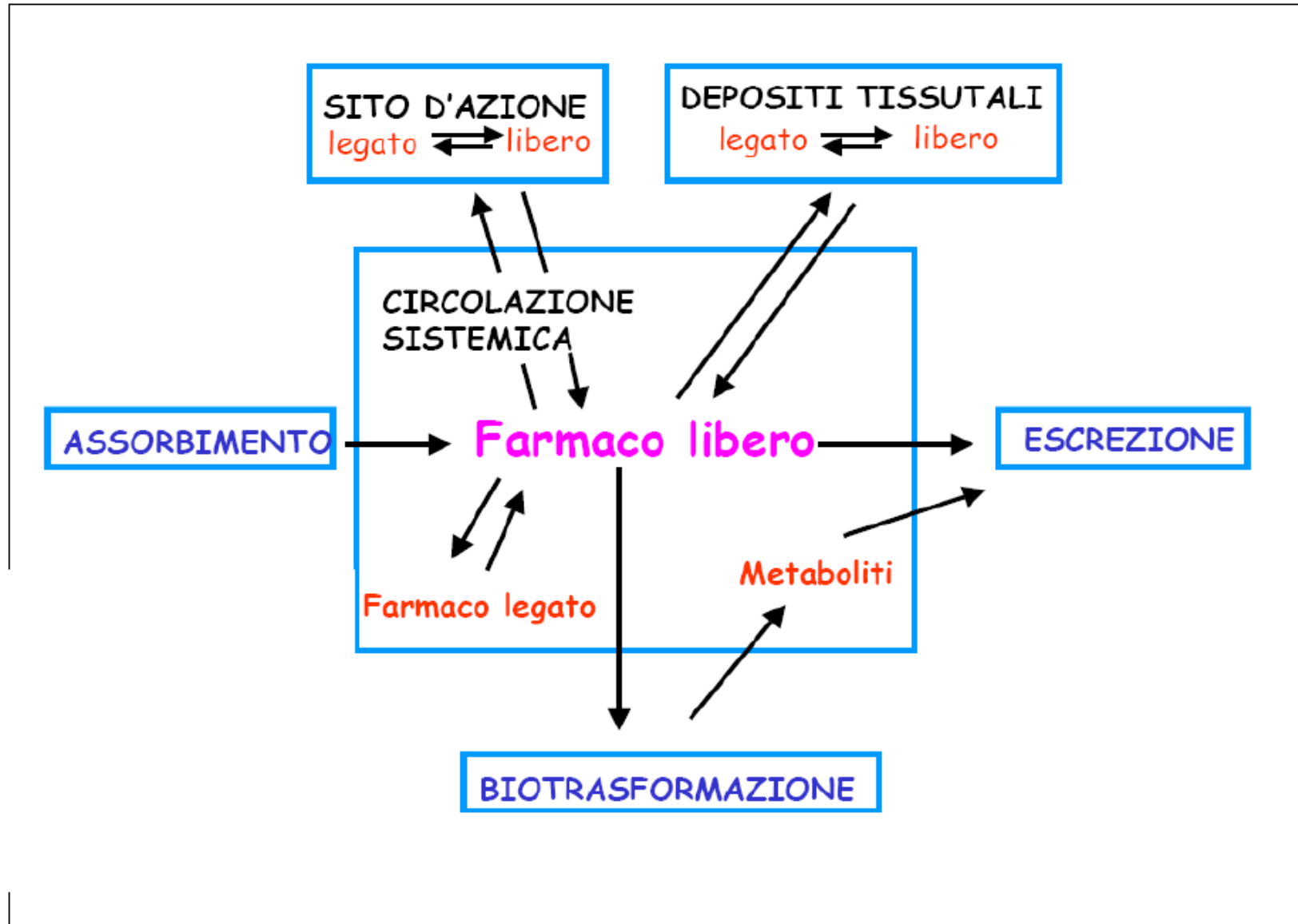
**Dimostrare la bioequivalenza rispetto ad un farmaco di efficacia e sicurezza note richiede tempi e costi molto minori, per cui il farmaco generico può essere posto in commercio ad un prezzo inferiore.**



# DISTRIBUZIONE

La distribuzione è la seconda fase della farmacocinetica ed esprime il passaggio del farmaco dal circolo sistemico ai tessuti periferici.

- FATTORI CHE INFLUENZANO LA DISTRIBUZIONE-
- Grado di liposolubilità del farmaco: condiziona il suo volume di distribuzione.
- - Permeabilità dei capillari: condiziona il percorso delle sostanze non liposolubili, che è maggiore nei distretti provvisti di capillari fenestrati (fegato, milza, midollo osseo) piuttosto che in quelle zone dotate di una circolazione altamente impermeabile (barriera ematoencefalica).
- - Flusso ematico ai diversi organi: siccome alcuni organi (rene, cuore, fegato) sono maggiormente vascolarizzati di altri (connettivi, adipe), questi ultimi riceveranno il farmaco più tardi degli altri.
- - Legame alle proteine plasmatiche: alcune sostanze molto liposolubili non riescono a stare a contatto con l'ambiente acquoso del plasma, pertanto si legano a particolari "tasche" idrofobiche di alcune proteine plasmatiche, come l'albumina, dalle quali fuoriescono solo molto lentamente.



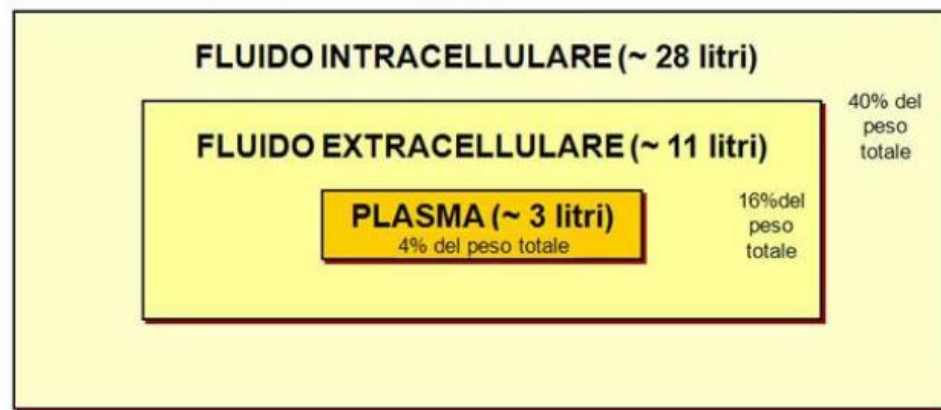
# VOLUME APPARENTE DI DISTRIBUZIONE

E' possibile considerare l'organismo come costituito da diversi compartimenti distinti dal punto di vista funzionale.

Tre compartimenti idrici principali: **ADULTO MAGRO (70Kg): H<sub>2</sub>O ca 60% peso (42L)**

- 1) acqua plasmatica (ca. 4% del peso corporeo) - **(3L)**
- 2) liquido interstiziale (extracellulare) (ca. 16% del peso corporeo) – **(11L)**
- 3) liquidi intracellulari (ca. 40% del peso corporeo) - **(28L)**

**TOTALE FLUIDI CORPOREI ~ 42 litri**  
(equivalente a circa il 60% del peso totale di un individuo adulto di 70 Kg)



## VOLUME DI DISTRIBUZIONE

A seguito dell'assorbimento o della somministrazione nella circolazione sistemica, un farmaco si distribuisce negli spazi interstiziali e nei fluidi intracellulari in funzione delle proprietà chimico-fisiche del singolo farmaco, della velocità con la quale il farmaco raggiunge organi e compartimenti diversi e della diversa capacità di questi ultimi di interagire con il farmaco.

|                          | RENE | CUORE | FEGATO | CERVELLO | MUSCOLO | GRASSO | RESTO | $\Sigma$ |
|--------------------------|------|-------|--------|----------|---------|--------|-------|----------|
| Flusso ematico (mL/min)  | 1100 | 250   | 1700   | 800      | 900     | 250    | 500   | 5500     |
| Massa (Kg)               | 0.3  | 0.3   | 2.6    | 1.3      | 34      | 10     | 21.5  | 70       |
| Flusso/Massa (mL/min/Kg) | 3667 | 883   | 654    | 615      | 26      | 25     | 23    |          |
| % gettata cardiaca       | 20   | 4.5   | 31     | 14.5     | 16.4    | 4.5    | 9.1   | 100      |



# COME SI CALCOLA IL Vd?

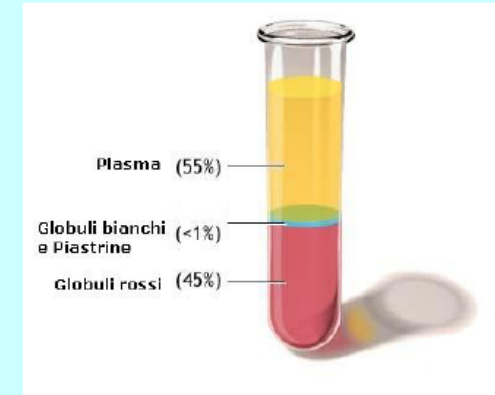
Il **VOLUME DI DISTRIBUZIONE (APPARENTE)** correla la quantità di farmaco presente nel corpo alla concentrazione del farmaco nel sangue (nel plasma)

**$V_D = \text{Quantità di farmaco nel corpo} / C$**

$$V = \frac{\text{Dose}}{C_p^0}$$

**Dose = Farmaco somministrato iv (mg)**  
 **$C_p^0$  = Concentrazione plasmatica (tempo 0)**

**In un uomo di 70 Kg:**  
**Volume plasmatico = 3 L**  
**Liquidi totali nel corpo = 42 L**



$$V_{\text{digoxina}} = 70 \text{ mg} / 0.1 \text{ mg/L}$$

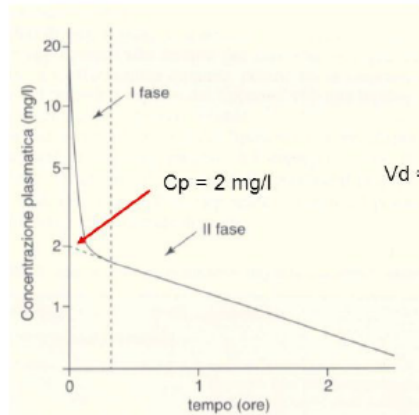
$$V_{\text{digoxina}} = 700 \text{ L!!}$$

# VOLUME DI DISTRIBUZIONE MONOCOMPARTIMENTALE

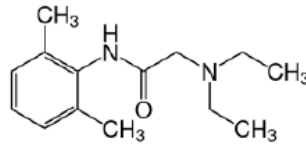
$$V_d = D / C_p$$

D = dose di farmaco somministrata

C<sub>p</sub> = estrapolazione a zero della fase di eliminazione (C<sub>p</sub> che si otterrebbe se l'intera dose somministrata raggiungesse l'equilibrio istantaneamente):



$$V_d = (150 \text{ mg}) / (2 \text{ mg/l}) = 75 \text{ litri}$$



NB: si preferisce esprimere il V<sub>d</sub> come volume/Kg peso corporeo in modo da ridurre la variabilità tra individui di peso diverso (senza però tener conto di costituzione fisica, età e patologie)

Il volume di distribuzione definito nell'equazione

$$V = \text{dose} / C_p^0$$

considera l'organismo come un singolo compartimento omogeneo. In questo *modello a un compartimento*, la somministrazione di tutti i farmaci avviene direttamente all'interno del compartimento centrale e la distribuzione del farmaco è istantanea nel volume V.

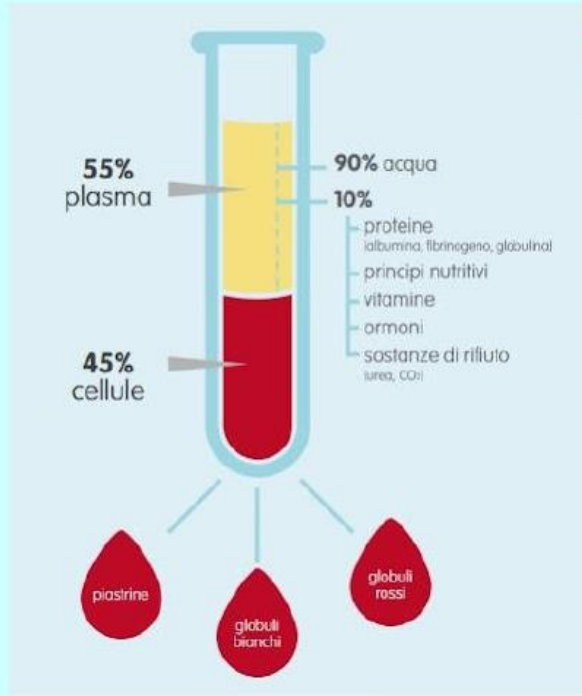
Somministrazione endovena di 150 mg di lidocaina

La concentrazione plasmatica decade con due velocità diverse

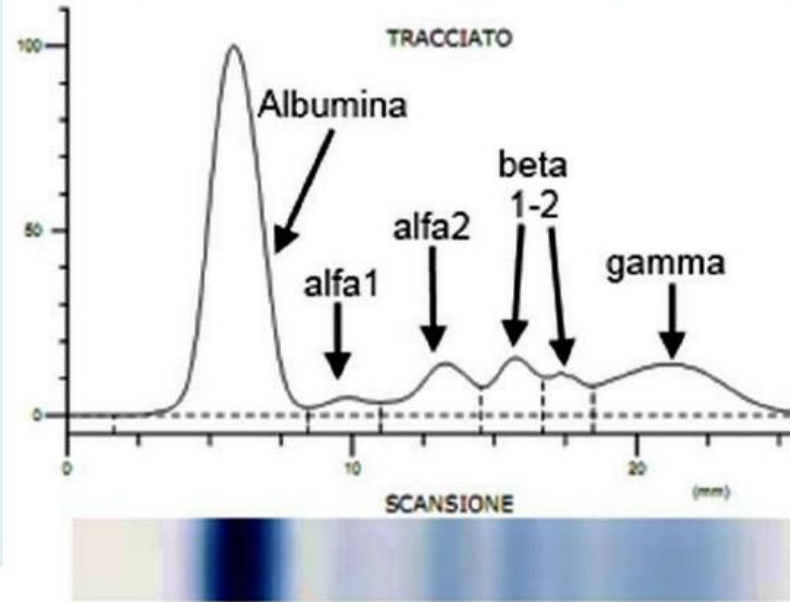
I fase: distribuzione nei tessuti

II fase: processi di eliminazione ed escrezione

# VOLUME DI DISTRIBUZIONE

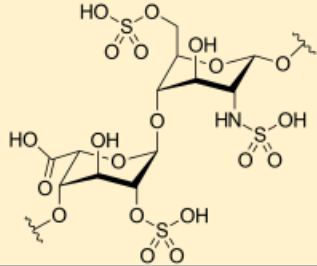
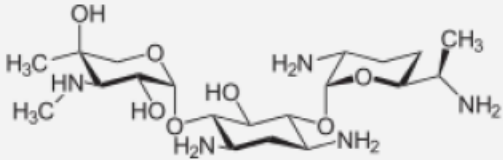
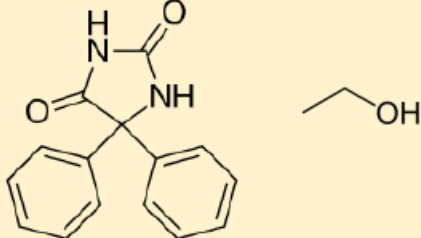
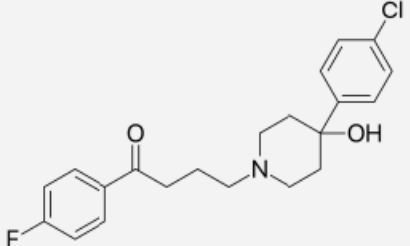


Numerosi farmaci circolano nel torrente circolatorio legati a proteine plasmatiche. L'albumina rappresenta il principale trasportatore di farmaci acidi; la  $\alpha_1$ -glicoproteina acida lega, invece, i farmaci basici.

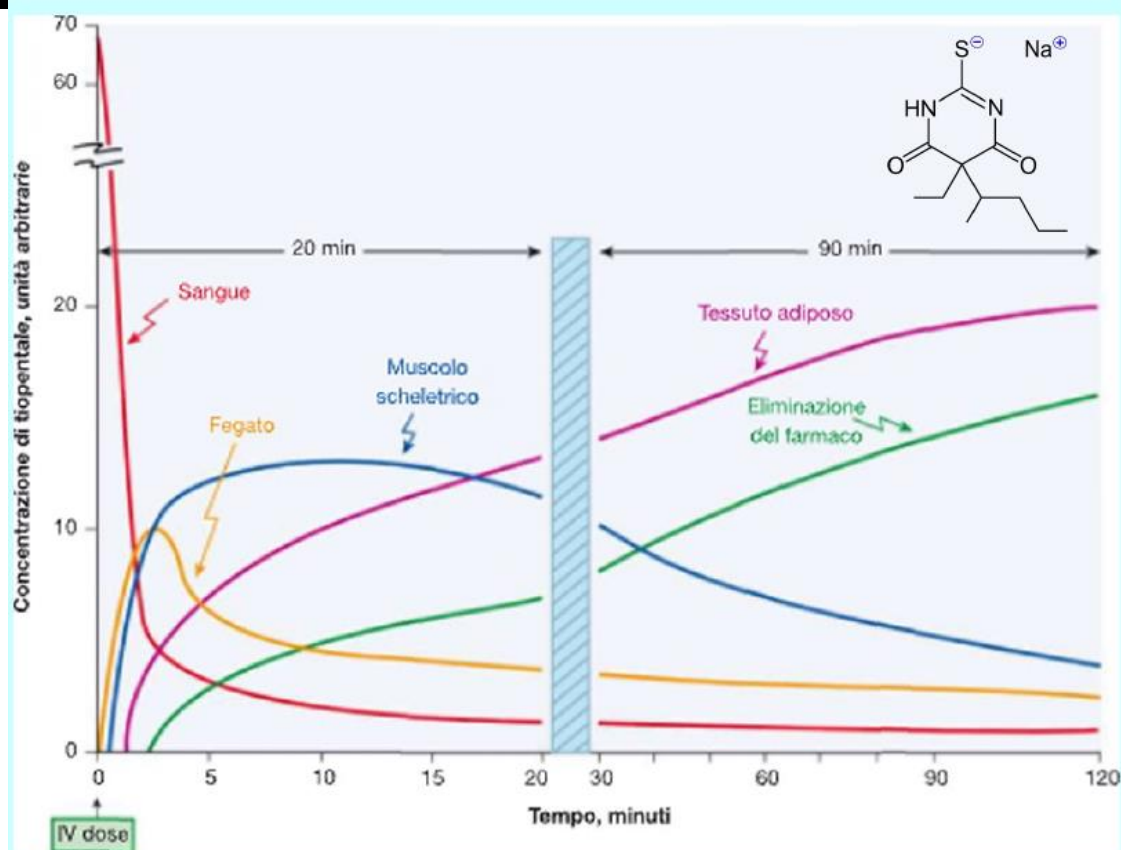


Nel caso di farmaci che si legano abbondantemente alle proteine plasmatiche, ma non a componenti tissutali, il volume di distribuzione si avvicinerà al volume plasmatico, poiché il farmaco legato alle proteine plasmatiche è misurabile nel dosaggio della maggior parte dei farmaci. Al contrario, alcuni farmaci presentano un volume di distribuzione elevato, sebbene la maggior parte del farmaco sia legata in circolo all'albumina, poiché questi farmaci vengono sequestrati anche in altri distretti.

# ESEMPI

|  |   |  |
|--|---|--|
| $V_D \sim 3 \text{ L (0.05 L/kg)}$       | Il farmaco resta nel sangue (eparina)   |   |
| $V_D \sim 7-22 \text{ L (0.1-0.3 L/kg)}$ | Distribuzione dal sangue al fluido extracellulare (gentamicina - farmaci polari)                    |   |
| $V_D \sim 40 \text{ L (0.5 L/kg)}$       | Distribuzione dal sangue ai fluidi intracellulari ed extracellulari (fenitoina, etanolo)            |   |
| $V_D \gg 40 \text{ L (0.5 L/kg)}$        | Distribuzione extracellulare e alto legame tissutale (aloperidolo - farmaci altamente liposolubili) |  |

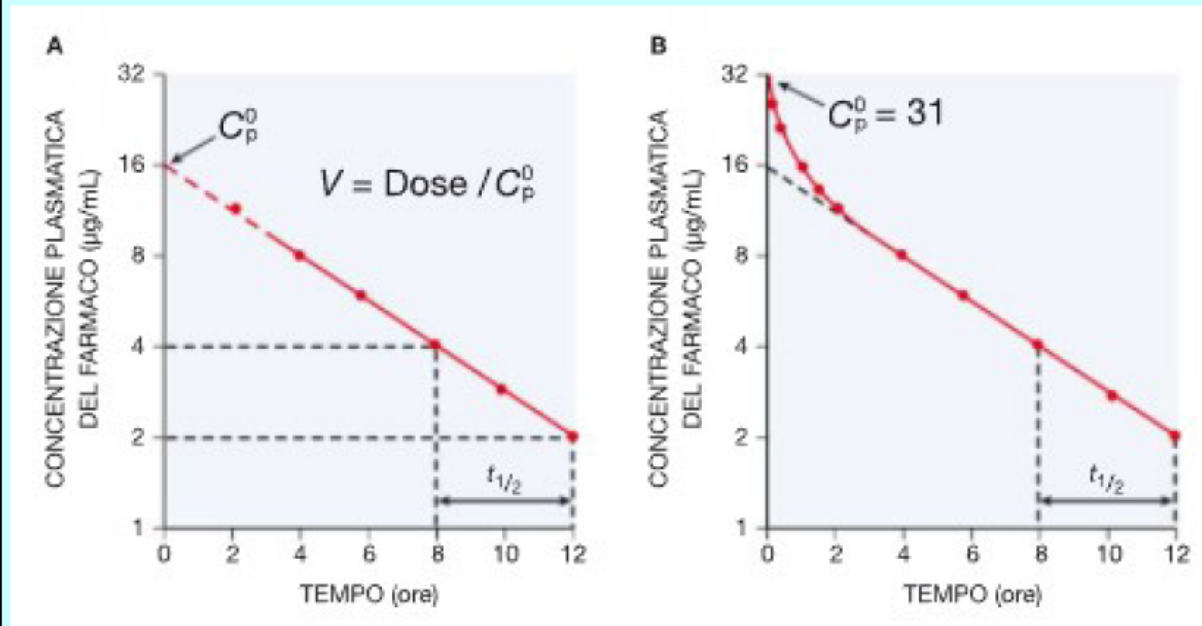
# VOLUME DI DISTRIBUZIONE



Le concentrazioni del farmaco a livello del sito d'azione del tiopentale rispecchiano fedelmente le concentrazioni plasmatiche del farmaco. La **velocità di accumulo** nei vari compartimenti del corpo dipende dal **flusso ematico regionale**; l'**entità dell'accumulo** riflette le **diverse capacità dei compartimenti** e il lento ma costante **effetto di eliminazione** che porta alla riduzione della quantità di farmaco disponibile. La fine dell'effetto anestetico di questa singola dose di tiopentale dipende dalla redistribuzione, non dal metabolismo. Il farmaco si ripartirà in uscita dai depositi tissutali nel momento in cui metabolismo ed eliminazione svolgeranno il loro ruolo. Lo svuotamento dei compartimenti seguirà lo stesso ordine osservato in fase di accumulo, in funzione della loro perfusione.

Le curve rappresentano la distribuzione dell'anestetico barbiturico **tiopentale** nei diversi compartimenti dell'organismo in seguito a singola somministrazione endovenosa rapida di una dose.

# VOLUME DI DISTRIBUZIONE



Generalmente il  $V_D$  viene espresso in L/Kg per rendere il parametro indipendente dal peso dell'individuo.

*Curve di concentrazione plasmatica in funzione del tempo dopo somministrazione per via endovenosa di un farmaco [500 mg] in un paziente di 70 kg.*

A. La misurazione delle concentrazioni plasmatiche del farmaco viene effettuata dopo 2 ore dalla somministrazione. La curva semilogaritmica della concentrazione plasmatica  $C_p$  in funzione del tempo sembra indicare che il farmaco viene eliminato da un singolo compartimento mediante un processo di primo ordine con una  $t_{1/2}$  di 4 ore ( $k = 0.693/t_{1/2} = 0.173 \text{ h}^{-1}$ ). Il volume di distribuzione  $V$  può essere determinato dal valore di  $C_p^0$ , ottenuto per estrapolazione al tempo zero. Il  $V$  nel caso di un modello a un compartimento, è di 31,3 L o 0,45 L/kg ( $V = \text{dose}/C_p^0$ )

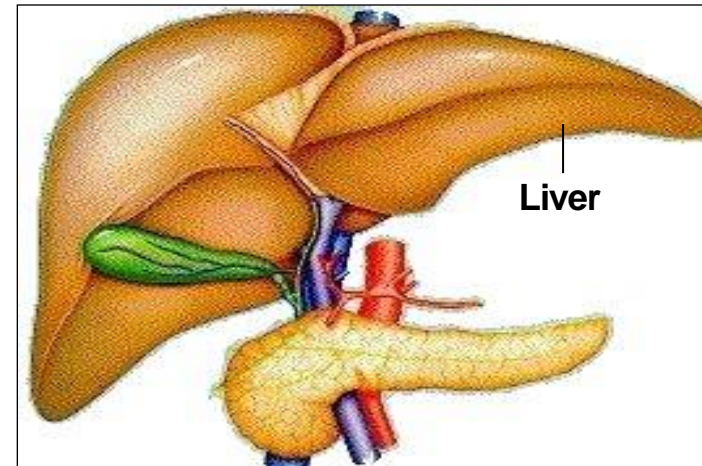
B. Il prelievo di campioni effettuato prima di 2 ore dalla somministrazione indica che, in realtà, il farmaco segue delle cinetiche multiesponenziali. Il  $V$  iniziale o 'centrale' per il farmaco ( $V = \text{dose}/C_p^0$ ) è di 16,1 L. L'esempio scelto indica che le cinetiche multicompartmentali possono passare inosservate nel caso non si operi un campionamento in tempi precoci. In questo caso particolare, trascurando le caratteristiche del sistema multicompartmentale vi è un errore solo del 10% nella stima della clearance. Per molti farmaci si possono osservare cinetiche multi compartmentali per periodi di tempo lunghi e il fatto di non considerare la fase di distribuzione può portare a commettere errori significativi nella stima della clearance e nella previsione della posologia appropriata.

# Biotransformation

## Metabolism

- major mechanism for terminating the biological activity of chemicals
- frequently the **single most important determinant** of the **duration and intensity** of the pharmacological response to a chemical

**Biotransformation** occurs in the Liver, kidney, lung, gastrointestinal track, and other organs



**The LIVER is the primary site of metabolism**

BIOTRASFORMAZIONI





# BIOTRASFORMAZIONI DEI FARMACI

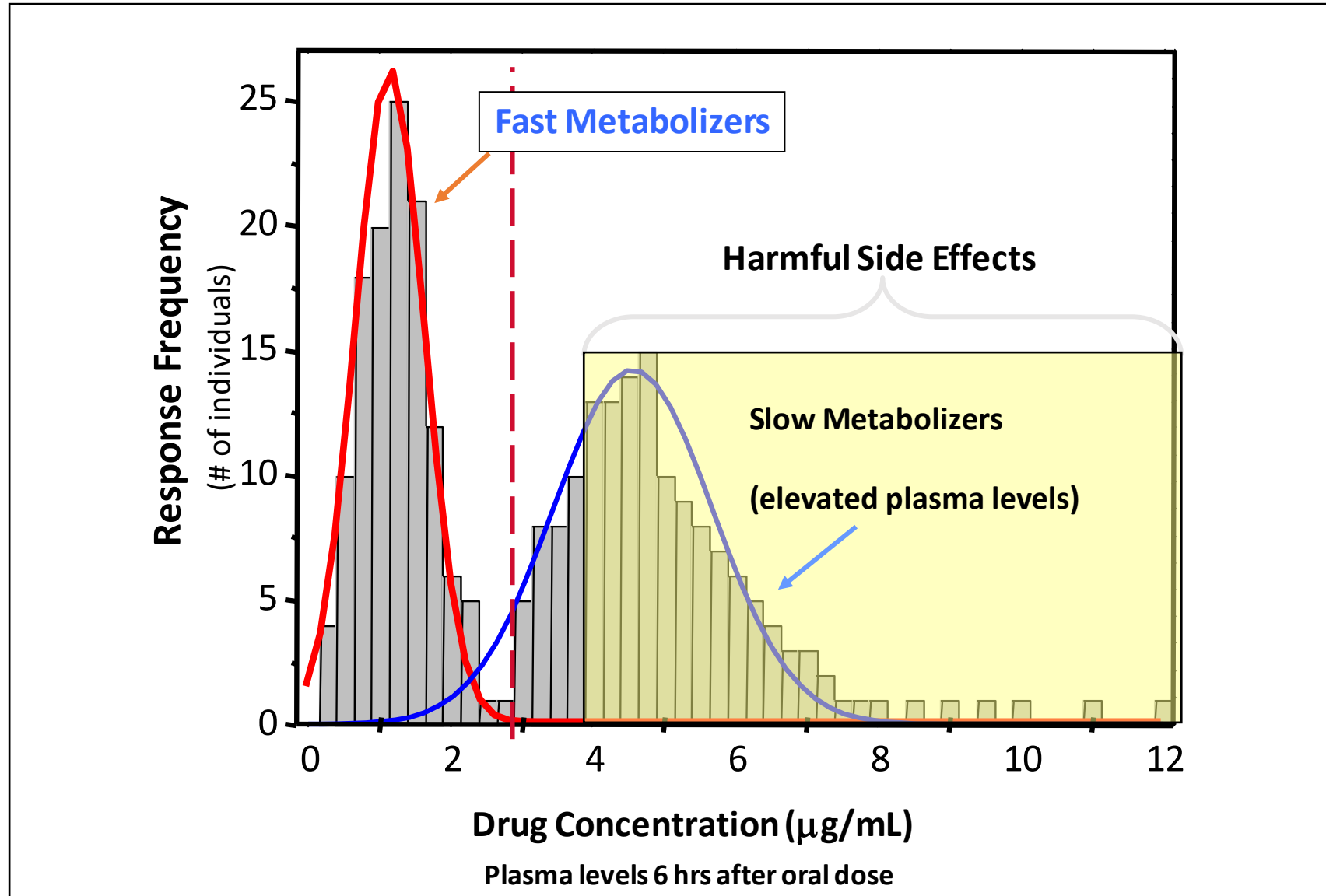
Farmaco attivo    Metabolita inattivo  
(caso più frequente)

Farmaco inattivo  
(profarmaco)    Metabolita attivo

Farmaco attivo    Metabolita attivo

Farmaco attivo    Metabolita tossico

# Pharmacogenetics of Metabolism



# ESCREZIONE

La principale via di escrezione dei farmaci (e dei loro metaboliti) è il RENE

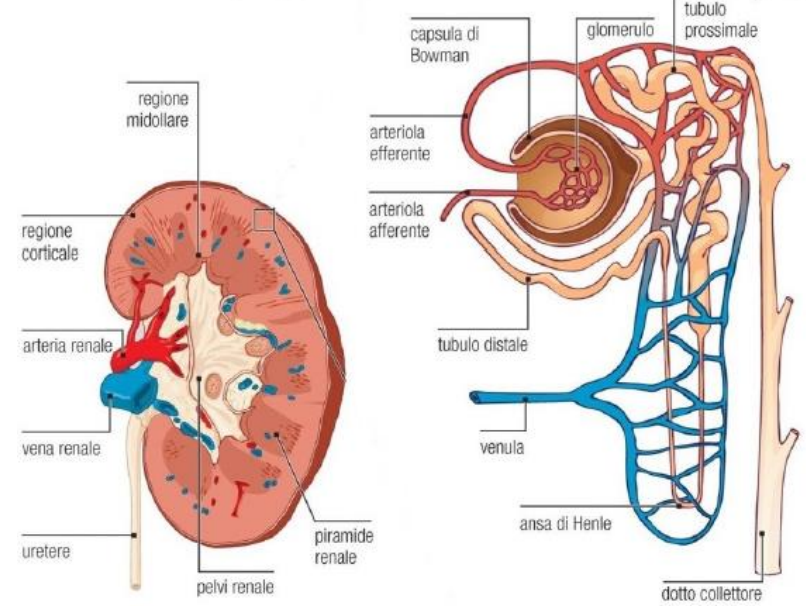
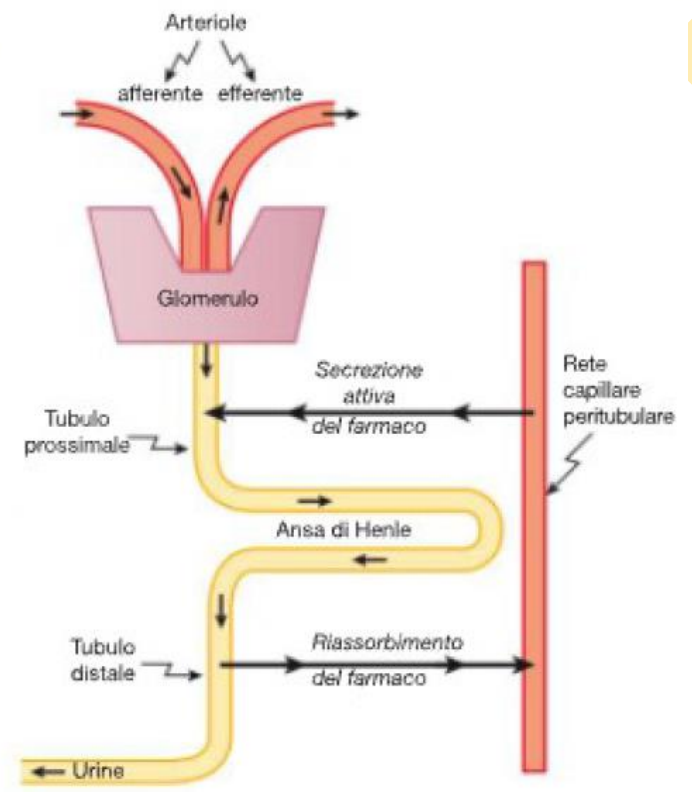
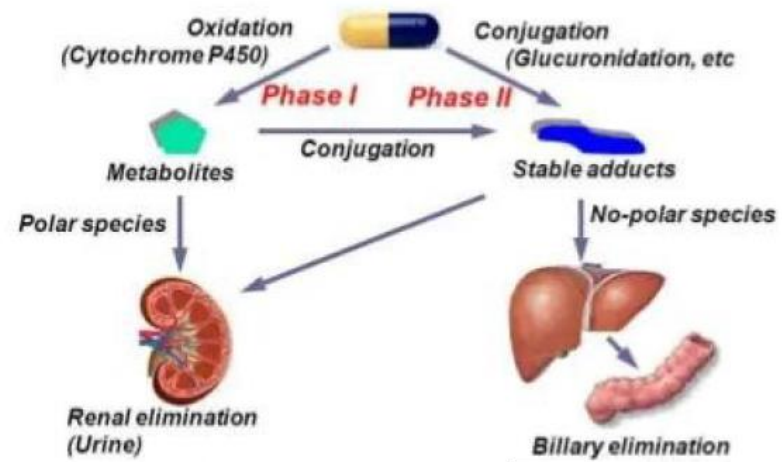
Altre vie di escrezione possono essere la VIA RESPIRATORIA, ad esempio per i farmaci gassosi o la VIA BILIARE (escrezione con le feci)

I farmaci che vengono eliminati tramite la bile possono venire in parte riassorbiti a livello intestinale: si viene così a creare il cosiddetto CIRCOLO ENTERO-EPATICO

Altra via di escrezione dei farmaci è rappresentata dal LATTE MATERNO. Questo fatto deve essere tenuto in considerazione quando si prescrivono farmaci a madri che allattano, per i possibili rischi di tossicità a cui si può esporre il neonato

Fattori che possono modificare l'escrezione dei farmaci, con possibile ACCUMULO, sono: presenza di patologie renali (insufficienza renale), l'età del paziente (neonati e anziani), ostacolo al deflusso biliare (per farmaci eliminati per questa via).

# CLEARANCE



Ogni rene contiene circa 1.200.000 unità strutturali: i nefroni, che sono composti da glomeruli e tubuli. Il glomerulo è circondato da una fitta rete di capillari (arteriole) che hanno un diametro maggiori di quelle efferenti. La forza di filtrazione è la pressione idrostatica del sangue che deriva dal lavoro del cuore. La pressione della filtrazione glomerulare è di circa 50 mm Hg, e facilita il rapido scambio di acqua ed una varietà di molecole a basso e medio peso molecolare.

# CLEARANCE

La misura della capacità dell'organismo di eliminare un farmaco.  
Viene espressa in volume per unità di tempo.

$$CL = \text{Dose}_{iv} / AUC$$

$$\text{Farmaco somministrato (nel tempo)} = CL \times C_{ss}$$

CL = Clearance sistemica

$C_{ss}$  = Concentrazione del farmaco allo stato stazionario

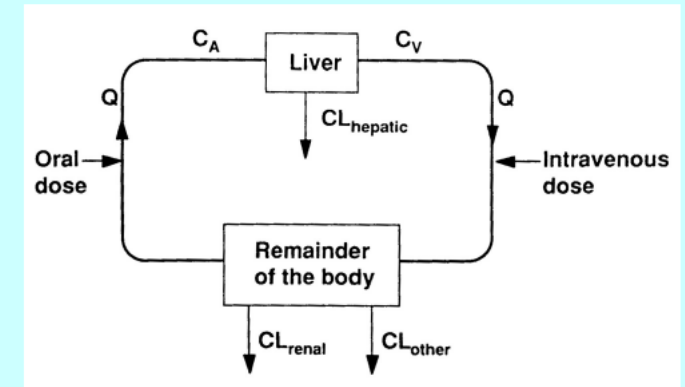
$$CL_{organ} = Q \left[ \frac{C_A - C_V}{C_A} \right] = Q \cdot E$$

$C_A$  = C Arteriosa

$C_V$  = C Venosa

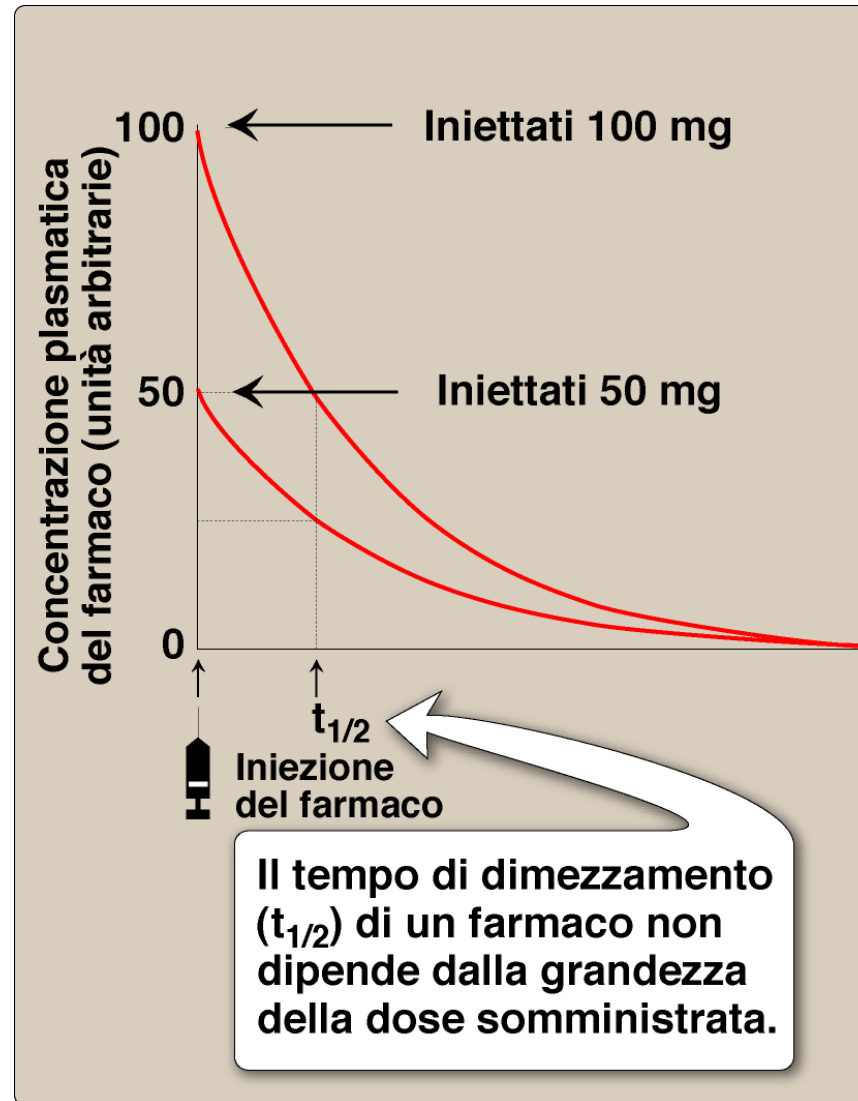
Q = Flusso ematico

E = Rapporto di estrazione



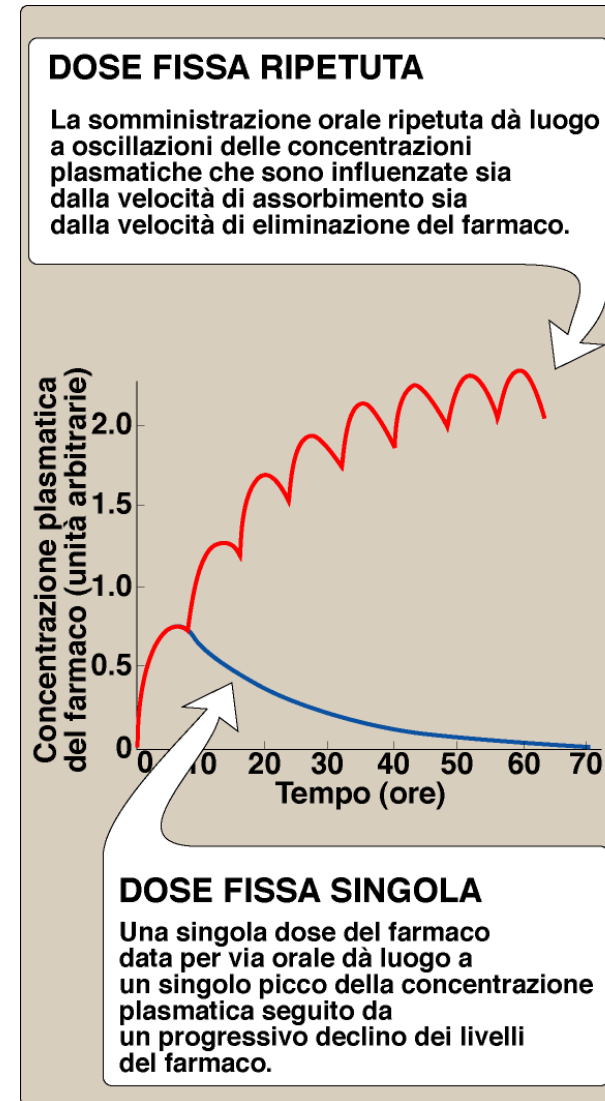
# Farmacocinetica

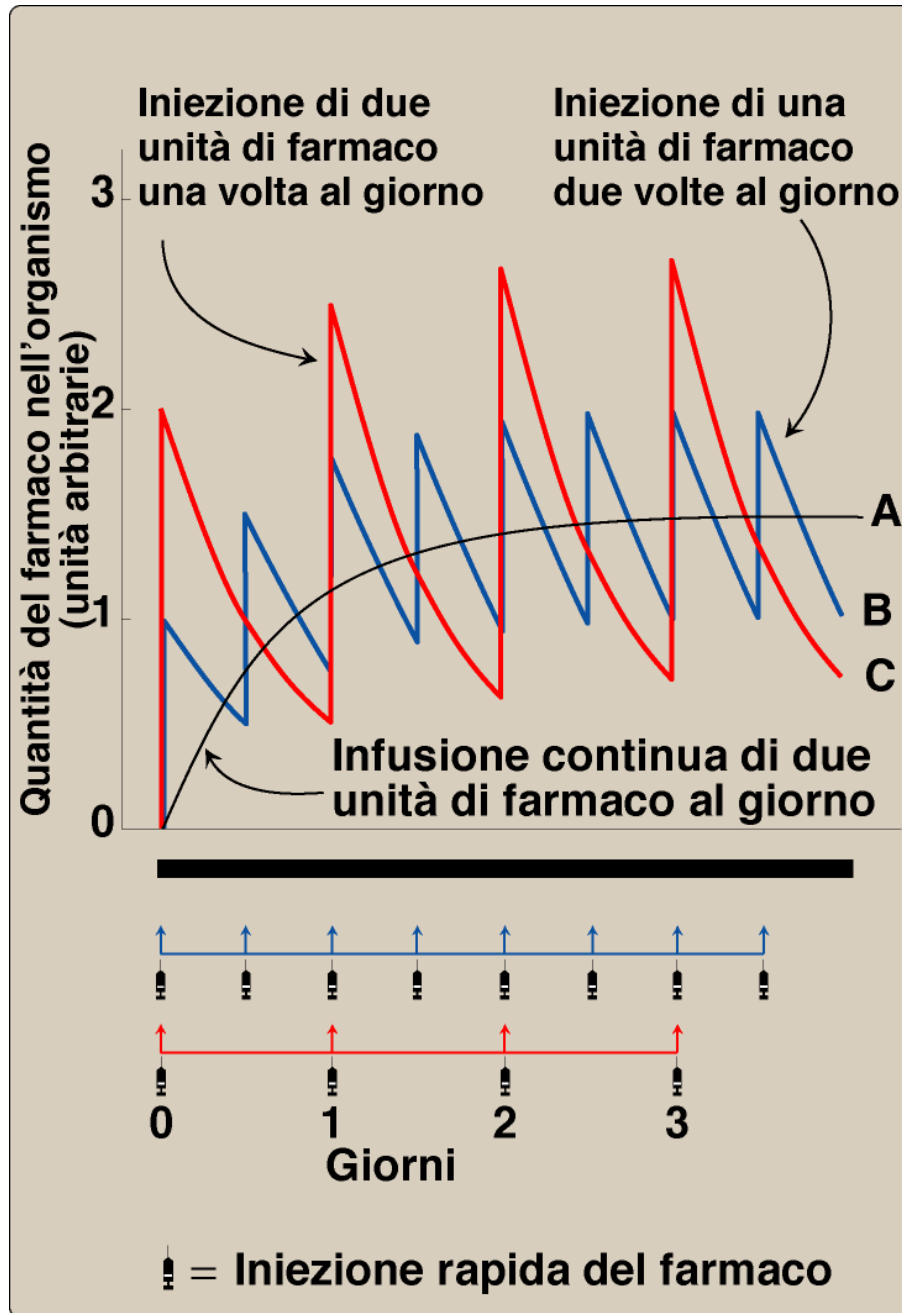
- Il tempo di dimezzamento è importante per sapere per quanto tempo l'organismo 'è protetto', da cui quando serve dare un'altra dose: definizione di modalità di dosaggio
- Indica anche se il farmaco si accumula: quando i valori sono superiori alle 24 ore, vuol dire che il farmaco tende a rimanere in alcuni organi
- In genere, farmaci lipofili tendono ad accumularsi in tessuti a caratteristiche lipofile (grasso, cervello, ecc)



# Farmacocinetica

- Frequenza somministrazioni
- Acuta: una dose
  - Per es., l'aspirina per il mal di testa
- Sub-cronica: più dosi
  - Per es. un antibiotico per 7-10 giorni
- Cronica: periodi prolungati
  - Per es. l'antipertensivo ogni mattina





## Farmacocinetica

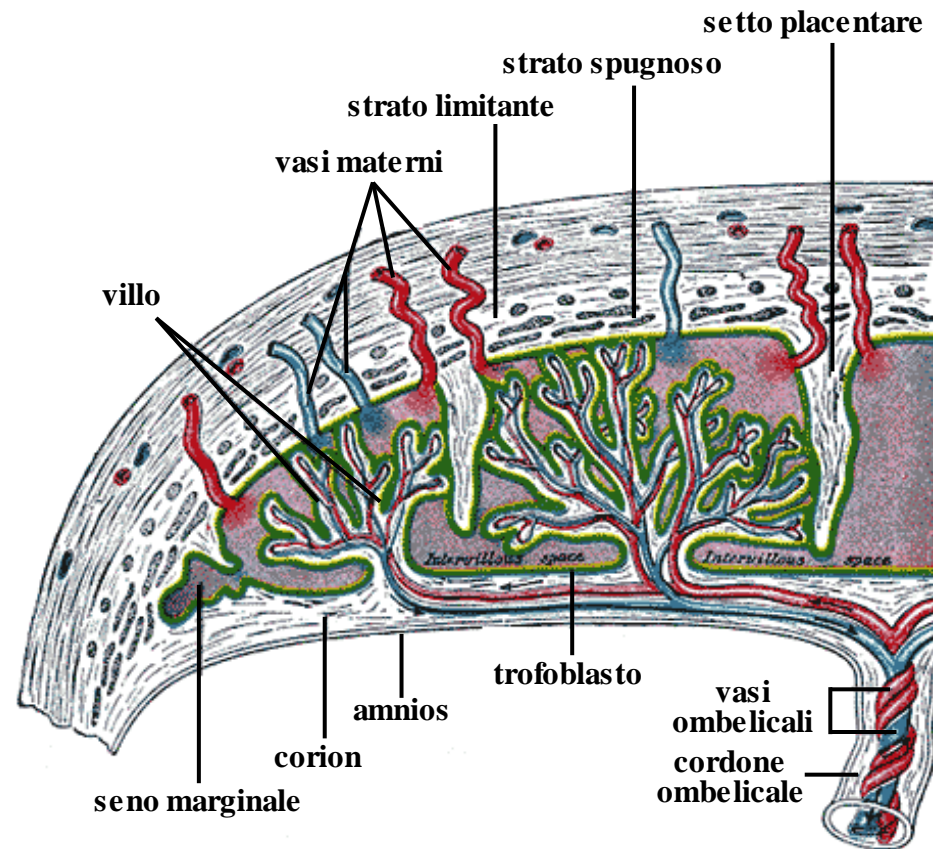
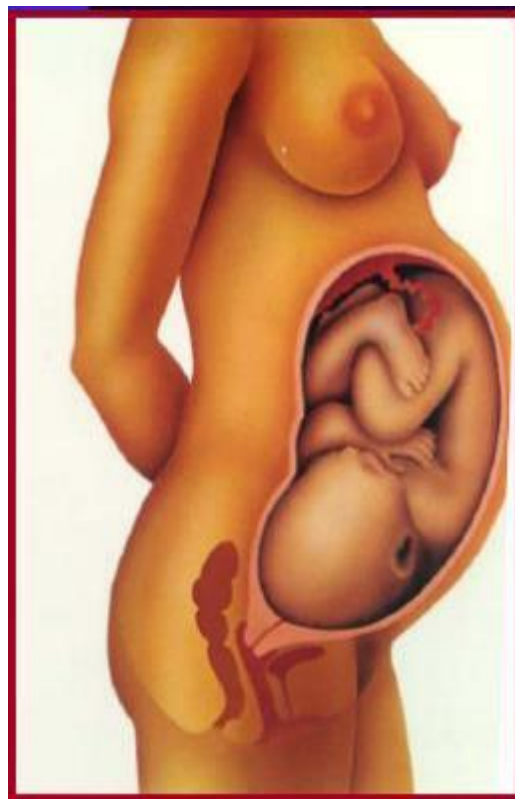
- Come mantenere livelli plasmatici costanti per più giorni?
  - Si conoscono i livelli desiderati
  - Si conosce la  $t_{1/2}$
  - Si definisce quante volte al giorno bisogna dare la dose unitaria di farmaco
- Il livello non sarà mai costante, ma oscilla con buona approssimazione attorno al livello desiderato
  - Non oltre (rischio di tossicità)
  - Non sotto (rischio di inefficacia)



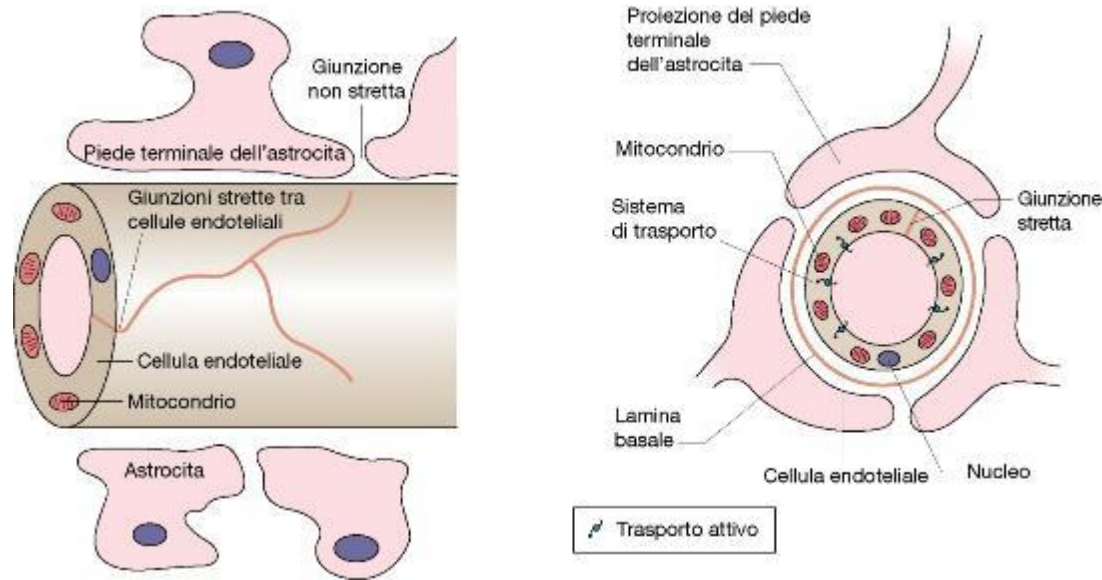
# BARRIERA PLACENTARE

Placenta: organo discoidale di origine mista (fetale/materna) per scambi e nutrizione dell'embrione e del feto.

Protegge il feto da sostanze nocive presenti nel sangue materno, ma deve garantire il passaggio di numerose sostanze; processi di trasporto attivo consentono il passaggio di sostanze nutritive e vitamine dalla madre al feto. Consiste di numerosi strati di cellule, interposte tra la circolazione fetale e materna, che variano con il periodo di gestazione



# BARRIERA EMATO- ENCEFALICA



- Struttura di protezione dell'encefalo.
- Protegge il cervello da agenti patogeni come batteri e tossine che possono danneggiarlo.
- Sigilla i capillari sanguigni del tessuto cerebrale.

- Gli astrociti che nutrono il cervello in via di sviluppo, avvolgono i capillari e stimolano la produzione di giunzioni strette, costituendo una barriera protettiva tra l'ambiente esterno ed i capillari cerebrali
- Solo due zone del SNC non presentano la barriera emato-encefalica: ipotalamo e centro del vomito nel bulbo.

PESO ORGANI  
ISTOLOGIA/ISTOPATOLOGIA  
PARAMETRI BIOCHIMICI  
PARAMETRI CHIMICI  
ANALISI URINA  
Gli endpoints dipendono e  
possono variare in funzione  
del tipo di studio di  
tossicità

---

## **ENDPOINTS ESAMINATI**



# SUSCETTIBILITA'

**Lifestage susceptibility:** Sensitivity to chemical insult at certain periods in life

Prenatal and postnatal  
windows of susceptibility



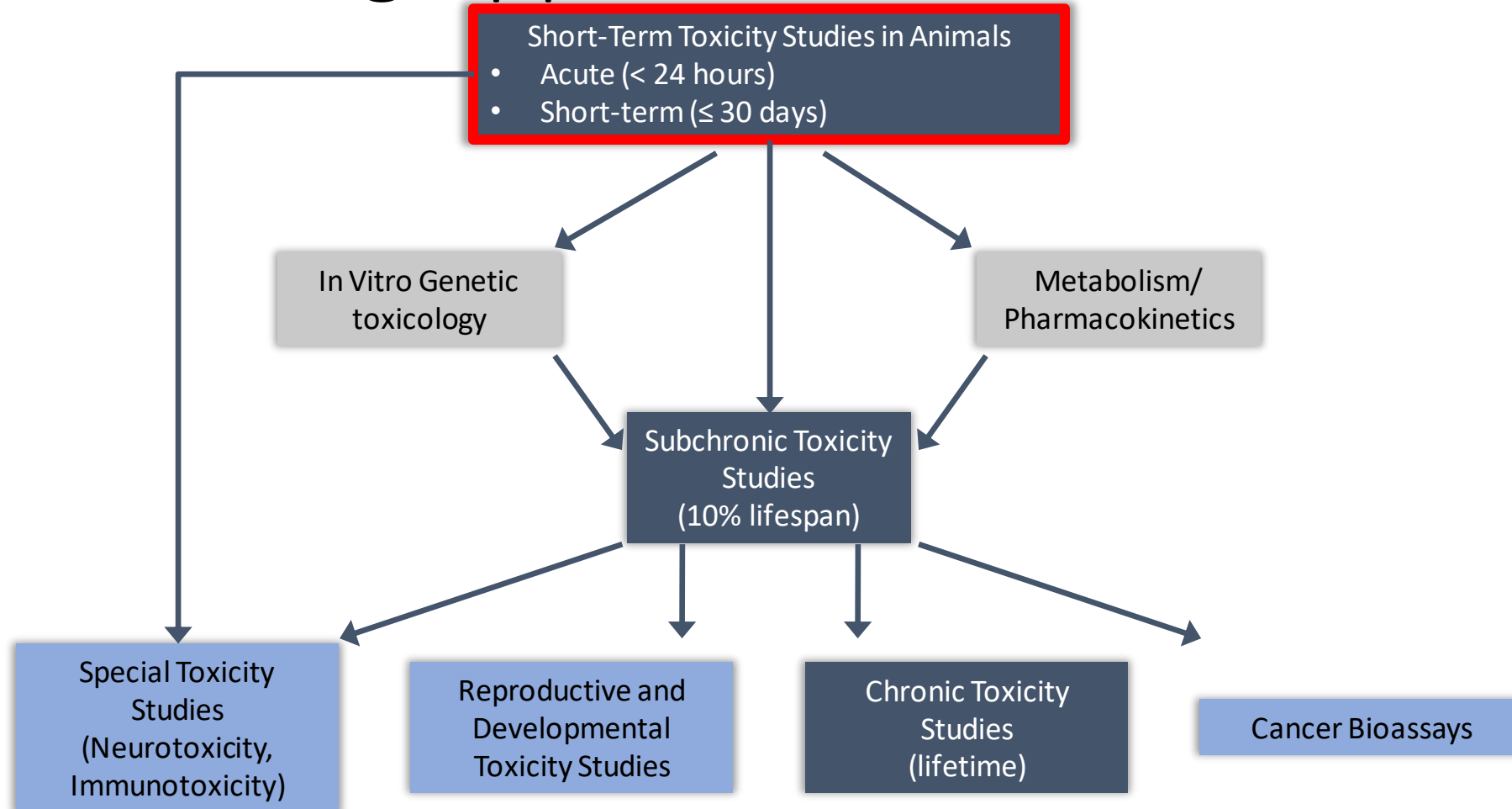
Early childhood



Endstages of life



# Tiered Testing Approaches



# Guidelines For Toxicity Testing

- **EPA/OCSP** – Office of Chemical Safety and Pollution Prevention Harmonized Test Guidelines

- (<http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/home/guidelin.htm>)



- **OECD** – Organization for Economic Co-operation and Development

- ([http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects\\_20745788](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788))



- **NTP** – National Toxicology Program

- (<http://ntp.niehs.nih.gov/testing/types/index.html>)



Usare aghi puliti, sterili , appuntiti  
Usare aghi di dimensioni appropriate\*  
Evitare la presenza di bolle d'aria nel liquido  
Portare il liquido da iniettare a temperatura ambiente  
Iniettare lentamente  
Non iniettare un liquido in quantità maggiori del massimo volume raccomandato  
\*ago sottile = meno dolore ma rischio di rottura



## **CRITERI GENERALI PER EFFETTUARE LA SOMMINISTRAZIONE DI FARMACI NEGLI ANIMALI DA LABORATORIO**

# Volume massimo raccomandato nei roditori

---

| SOMM. | SEDE                                   | Q (ml)    | AGO (G)* |
|-------|--|-----------|----------|
| SC    | Dorso-fianco                           | 0,2       | 24-26    |
| ID    | Dorso                                  | 0.05-0,1  | 25-26    |
| IM    | Muscoli zampa posteriore               | 0.05 -0,1 | 25-26    |
| IP    | Lateralmente alla linea mediana addome | 0,1-0,2   | 24-26    |
| EV    | Vena laterale della coda               | 0,2- 0,5  | 20-25    |

**\*Gauge (G):**

27= 0,40 mm

26= 0,45 mm

25= 0,50 mm

24= 0,55 mm

23= 0,60 mm

22= 0,70 mm

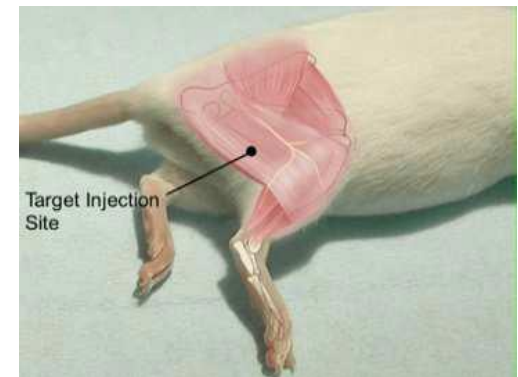
20= 0,90 mm

19= 1,00 mm



# Roditori

- **Iniezione intraperitoneale (IP):**  
sostituisce l' endovenosa grazie al rapido assorbimento dei farmaci
- **Ratto:** quadrante inferiore destro poiché in questa specie sulla sinistra è situato il cieco
- **Iniezioni sottocutanea (SC):**  
possono essere effettuate sul dorso e sulla collottola, in senso antero posteriore
- **Iniezione intramuscolare (IM):**  
nella zona del quadricipite ma viene effettuata meno frequentemente perché più dolorosa



SOMMINISTRAZIONE  
ORALE

## Gavage orale



## SOMMINISTRAZIONE SOTTOCUTANEA



### ■ Target:

L'area più frequentemente usata è:

**lungo il dorso**

**sul fianco**

### PROCEDURA:

- Disinfettare la parte interessata
- Sollevare la cute
- Portare la cute verso l'ago
- piuttosto che l'ago verso la cute



## SOMMINISTRAZIONE INTRADERMICA



### ■ Target:

L'area più frequentemente usata è:

**lungo il dorso**

### PROCEDURA:

Rasare il pelo

Disinfettare il sito di inoculazione

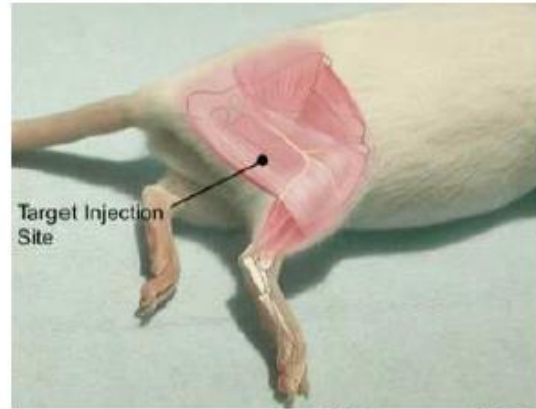
**Inserire l'ago e inclinarlo  
portandolo quasi parallelo alla  
cute**

- Iniettare lentamente il materiale

- (max 50  $\mu$ l)

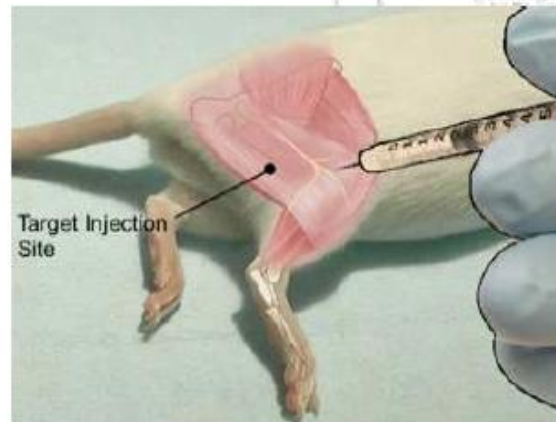
**NOTA:** la formazione di un pomfo superficiale semisferico  
denoterà la corretta esecuzione dell'iniezione

## SOMMINISTRAZIONE INTRAMUSCOLO



### ■ Target:

**QUADRICIPITE FEMORALE**  
**BICIPITE FEMORALE**



### PROCEDURA:

Rasare il pelo  
Disinfettare il sito di inoculazione  
Iniettare lentamente il materiale

Nota; a causa del **potenziale rischio di danno al nervo sciatico**,  
l'iniezione nel **BICIPITE FEMORALE** deve essere eseguito solo da  
personale esperto

## SOMMINISTRAZIONE INTRAPERITONEALE



### ■ Target:

**QUADRANTE LATERALE INFERIORE  
DELL'ADDOME (DX o SX)**



### **PROCEDURA:**

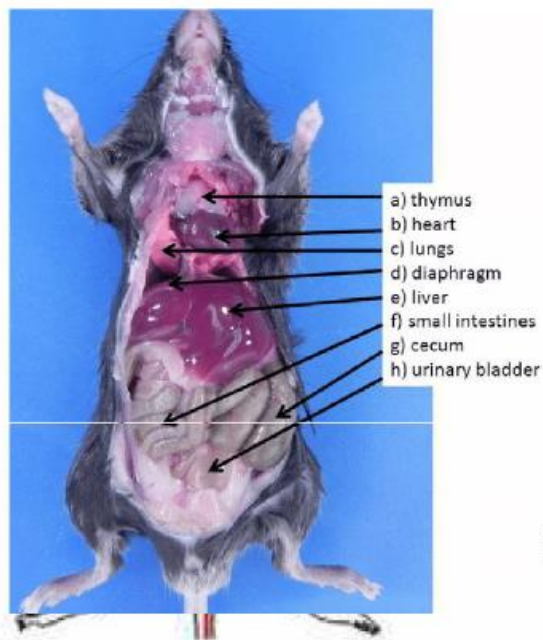
Rasare il pelo

Disinfettare il sito di inoculazione

**INCLINARE AGO 30°**

Iniettare lentamente il materiale

## SOMMINISTRAZIONE INTRAPERITONEALE - RISCHI



Potenziale rischio di danneggiare gli **organi interni**;

per evitare di perforare la

**vescica**

bisogna iniettare

**lateralmente** alla linea mediana;

l'ago inoltre **NON** deve essere inserito

**orizzontalmente** (fra la cute e la parete addominale) o

**verticalmente**

(rischio di danneggiare i **reni**)

l'iniezione deve essere eseguita

preferibilmente nel **quadrante**

**addominale inferiore destro**.

## SOMMINISTRAZIONE INTRAVENOSA



### ■ Target:

**VENE LATERALI DELLA CODA  
DALLA PARTE PIU' DISTALE (\*)**

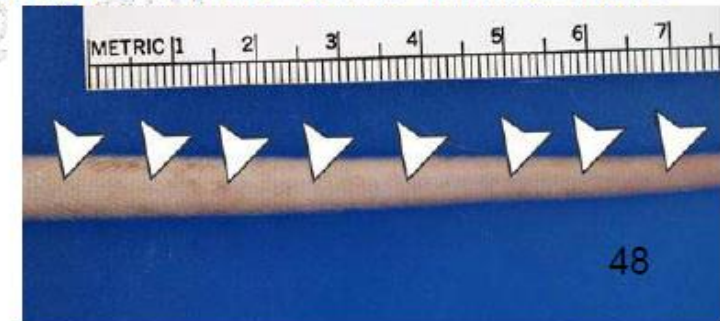
### PROCEDURA:

- Scaldare la coda (max 25-27 °C)
- Disinfettare sito di inoculazione



### - **AGO QUASI PARALLELO**

- Iniettare lentamente il materiale





# PRELIEVO DI SANGUE

E' importante scegliere il metodo più appropriato di prelievo di sangue in modo che corrisponda

Al corretto **volume richiesto** per le attività di ricerca

Alcuni metodi di prelievo prevedono la **sopravvivenza** mentre altri prevedono la **soppressione** dell'animale

Sopravvivenza:

- Prelievo venoso **retro-orbitale**
- Prelievo venoso **sottomandibolare**
- Prelievo **Vene laterali della coda**
- Prelievo **Vena safena**

Soppressione

- Prelievo **intracardiaco**



# PRELIEVO INTRACARDIACO

Con questa procedura il sangue viene raccolto **direttamente dal ventricolo** e deve essere eseguita con l'animale **in anestesia profonda** in quanto è una procedura che non prevede la sopravvivenza.

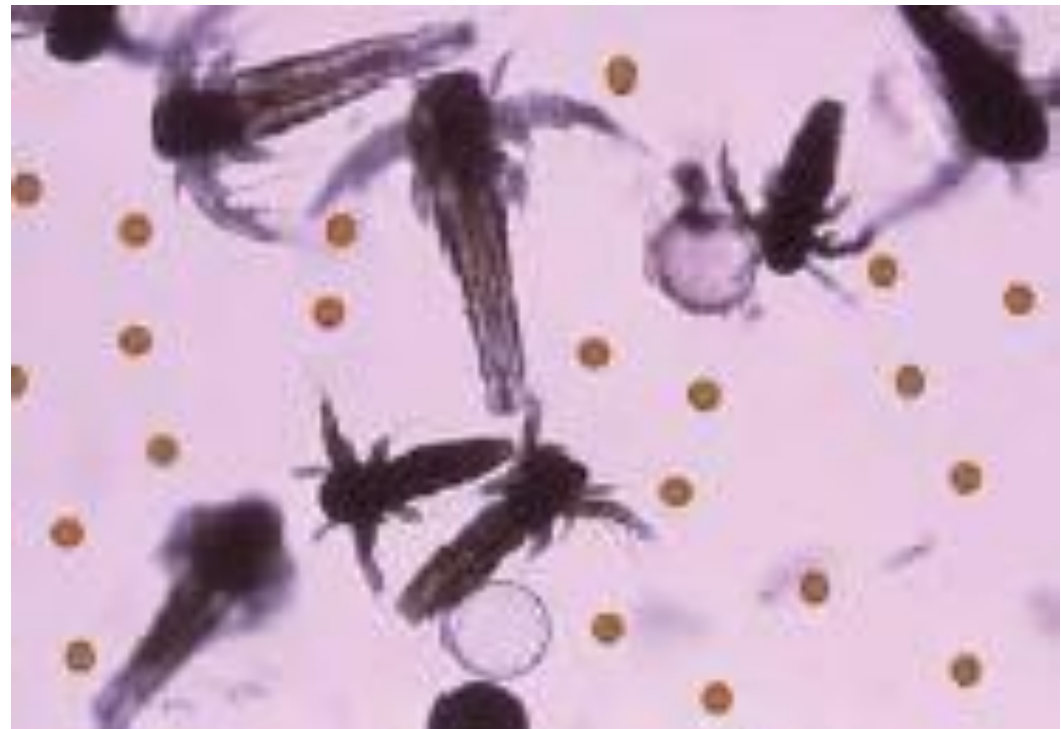
Una volta accertata l'anestesia profonda, disinfettare la zona, individuare la base dello sterno e inserire l'ago in cavità toracica con un angolo di 15-20° diretto a sinistra della linea mediana



SOMMINISTRAZIONE  
INTRAPERITONEALE



# SOMMINISTRAZIONE PER VIA ORALE

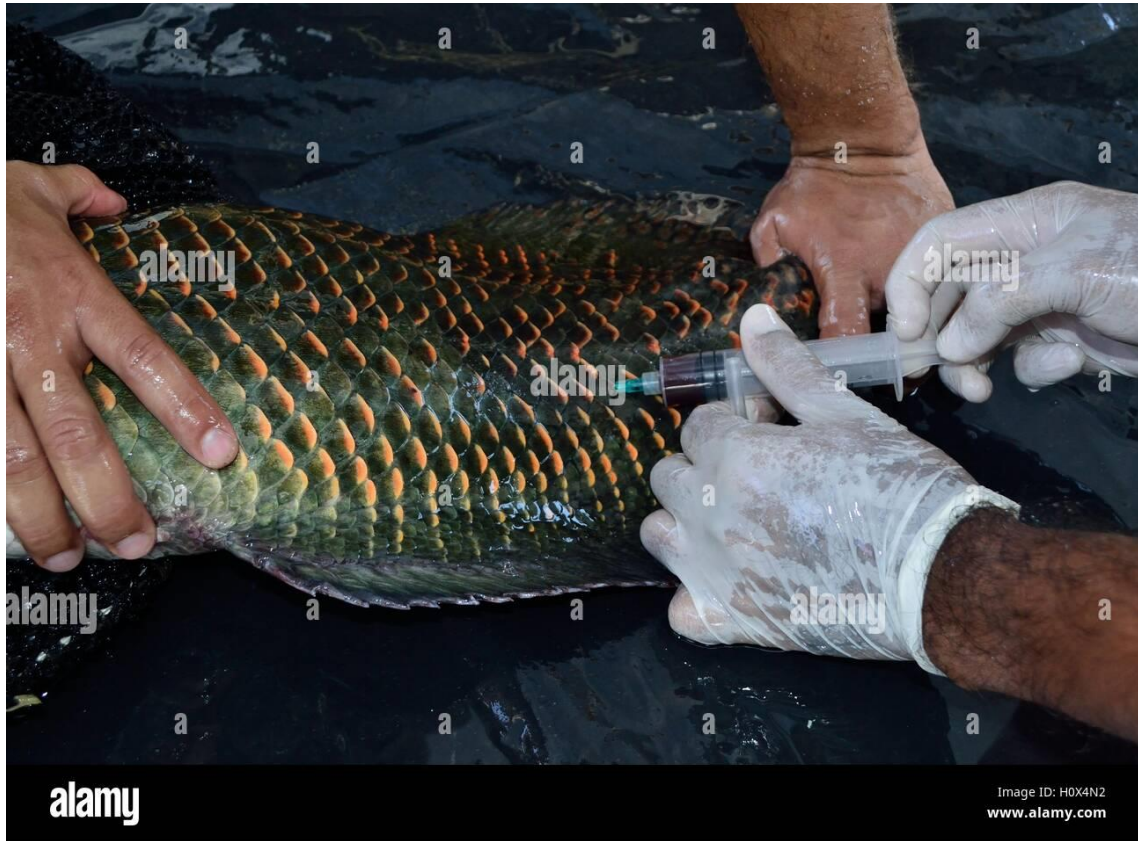


# SOMMINISTRAZIONE PER IMMERSIONE



# PRELIEVO DI SANGUE

---



<https://researchanimaltraining.com/article-categories/administration-of-substances/>

<https://www.jove.com/v/10246/astinenza-di-sangue-i?language=Italian>

VIDEO

