

***ECOTOSSICOLOGIA***  
DR. CARMINE MEROLA, DVM. Ph.D

---

# Tossicologia

Definizioni-Tossicocinetica-  
Tossicodinamica



# Definizione di «tossico» ed «intossicazione»

- » Un «**tossico**» è una sostanza chimica che, una volta venuta a contatto con un sistema biologico, determina una alterazione dello stato fisiologico non desiderata
- » 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.
- » L'elemento che differenzia l'intossicazione da altre alterazioni dello stato fisiologico, causate da altra natura (traumatica, infettiva, degenerativa) è **l'estraneità** (in senso qualitativo o quantitativo) dell'agente eziologico, intendendo come estranea una sostanza chimica che non è normalmente presente in un organismo o presente a concentrazioni non fisiologiche.
- » Il concetto di estraneo (quantità e qualità) deve essere correlato sempre alla definizione di **dose**.

# Concetto di Dose e Concentrazione

- » 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**).
- » La **CONCENTRAZIONE** è definita come quella QUANTITA' DI SOSTANZA ESPRESSA IN UNITA' DI PESO PER UNITA' DI **VOLUME** (mg/**L**) (p/V).
- » La **CONCENTRAZIONE** può essere anche espressa in MOLARITA' (M) come numero di moli di soluto contenute in 1 LITRO di soluzione.

## Metodi per esprimere la concentrazione di una soluzione

Metodo	Simbolo	Soluto	Soluzione
Percentuale peso/peso	% p/p	n. grammi	100 grammi
Percentuale peso/volume	% p/v	n. grammi	100 ml
Percentuale volume/volume	% v/v	n. ml	100 ml
Parti per Milione	ppm	n. mg	1 litro
Molarità	M	n. moli	1 litro
Normalità	N	n. grammi equivalenti	1 litro

# Effetto tossico

$$ETs (i/r) = Cs (b) (t)* R (n)* AF(sr)$$

- » ET = Effetto Tossico
- » S = sostanza (chimica)
- » T = tempo
- » C = concentrazione
- » b = **biofase**: sede dell'organismo in cui il tossico svolge l'azione. Sede dove sono presenti i recettori.
- » R = numero recettori
- » AF = Affinità S vs R (forza/tipo di legame/Costante di dissociazione, ecc.)

# Effetto tossico

$$ETs (i/r) = Cs (b) (t) * R (n) * AF(sr)$$

**Tossicocinetica  
(ADME)**

**Tossicodinamica**

# Dose Efficace 50 (DE50) e Dose Letale 50 (DL50)

- » La **DE50** è definita come quella dose che somministrata in una determinata specie, attraverso una determinata via è in grado di produrre un determinato **effetto terapeutico** nel 50% degli animali trattati.
- » La **DL50** è definita come quella dose che somministrata in una determinata specie, attraverso una determinata via è in grado di determinare la **morte** nel 50% degli animali trattati.

**Indice terapeutico** =  $DL_{50}/DE_{50}$

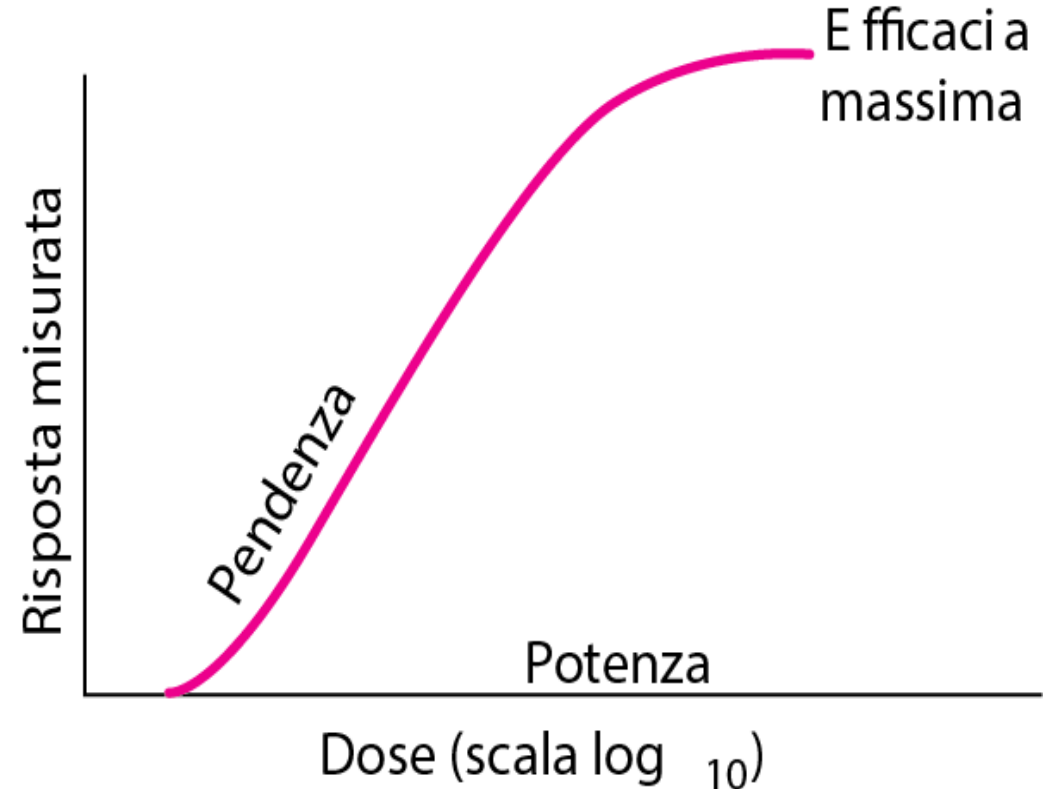
Ci dà informazioni circa la maneggevolezza del farmaco/tossico





# Relazione dose-risposta

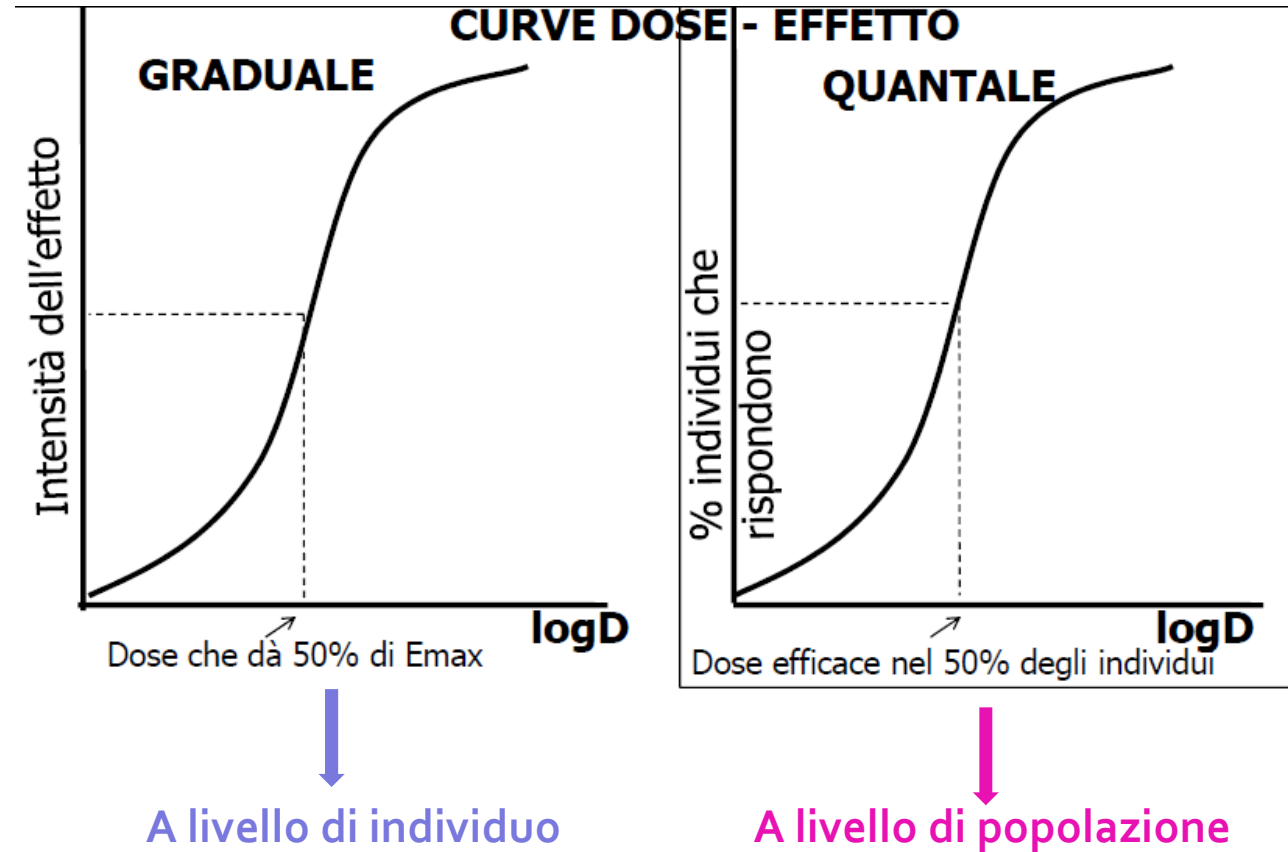
- » È essenziale che esista un bersaglio con cui l'agente tossico possa interagire perché la risposta tossica avvenga. L'effetto tossico è strettamente correlato sia qualitativamente che quantitativamente alla **dose interna** (mg/kg p.c. dell'agente tossico e/o dei suoi metaboliti che raggiungono il 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).



Un modo più conveniente di esprimere la relazione dose-effetto è quello di mettere in grafico la dose (asse delle ascisse) e la risposta misurata (asse delle ordinate). La relazione dose-risposta, in questo caso, non prende in considerazione il fattore tempo.

# Tipologie di curve dose-risposta

- » Se la risposta misurata è del tipo «tutto o nulla» si esprime con una curva dose-risposta di tipo quantale. In questi casi si misura la frequenza di risposta a diverse dosi, cioè la percentuale di soggetti in cui compare la risposta.
- » Se la risposta misurata è invece un parametro continuo, sulla curva dose-risposta si può esprimere l'intensità della risposta in funzione della dose con una curva di tipo graduale.





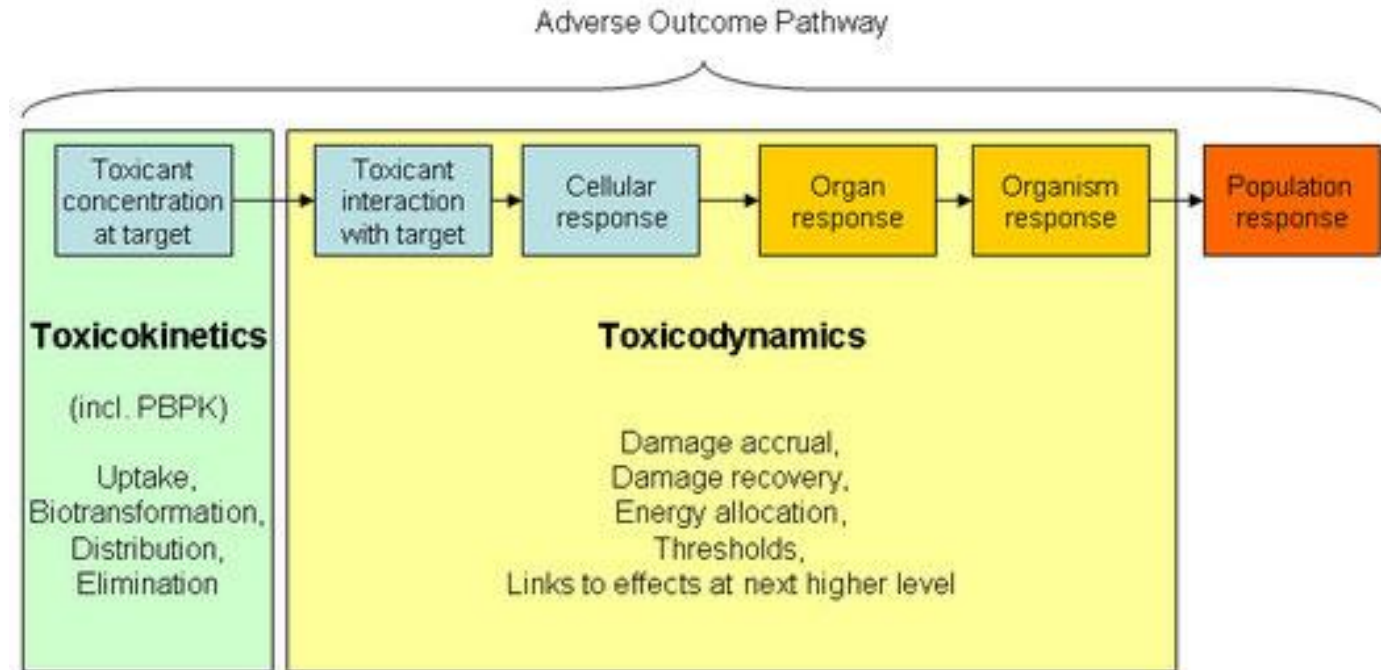
# Classificazione delle sostanze tossiche

Indice di tossicità	Classificazione	Probabile DL <sub>50</sub> (uomo 70kg)
6	Supertossica	< 5 mg/kg
5	Altamente tossica	5-50 mg/kg
4	Molto tossica	50-500 mg/kg
3	Moderatamente tossica	0,5-5 g/kg
2	Leggermente tossica	5-15 g/kg
1	Atossica	> 15 g/kg

Le dosi sono estrapolate da osservazioni cliniche e dai valori delle DL<sub>50</sub> ottenute in varie specie animali

# Tossicocinetica e Tossicodinamica

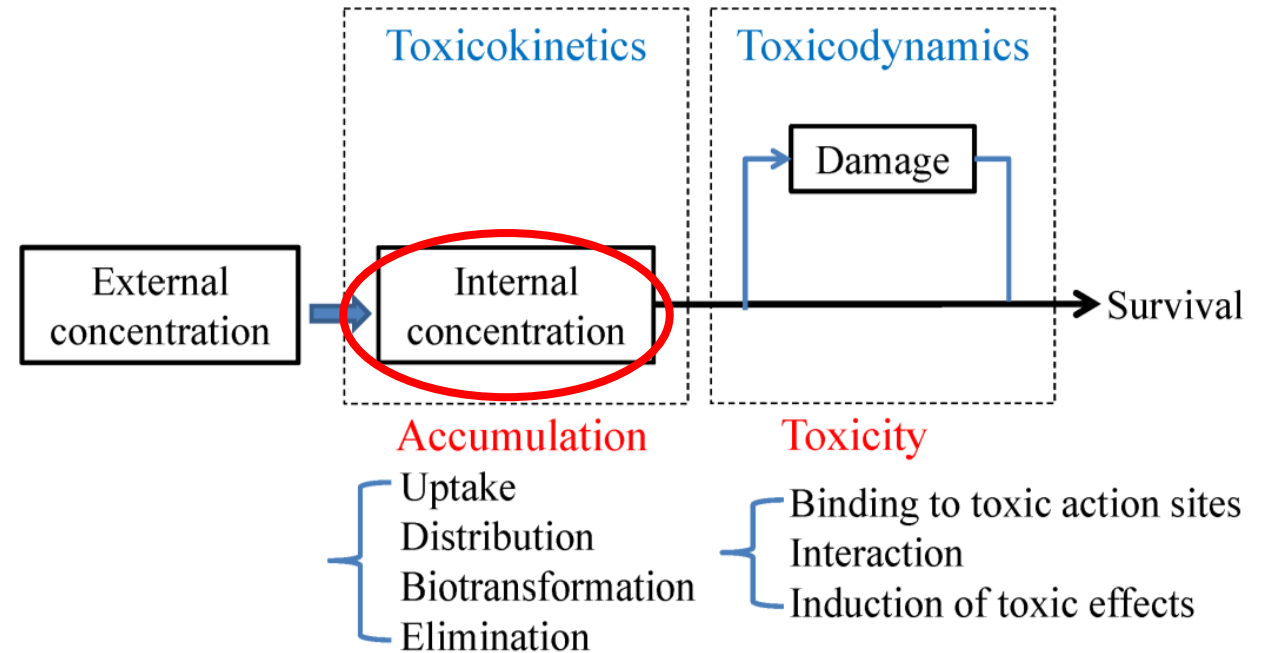
- » Per **Tossicocinetica** si intende le variazioni delle concentrazioni tissutali nel tempo della sostanza (tossico). Queste variazioni sono il risultato dei processi di assorbimento, distribuzione, metabolizzazione ed eliminazione della sostanza dall'organismo (ADME).
- » Per **Tossicodinamica** si intendono le modifiche di tipo biochimico che la sostanza tossica determina nell'organismo.



# Tossicocinetica

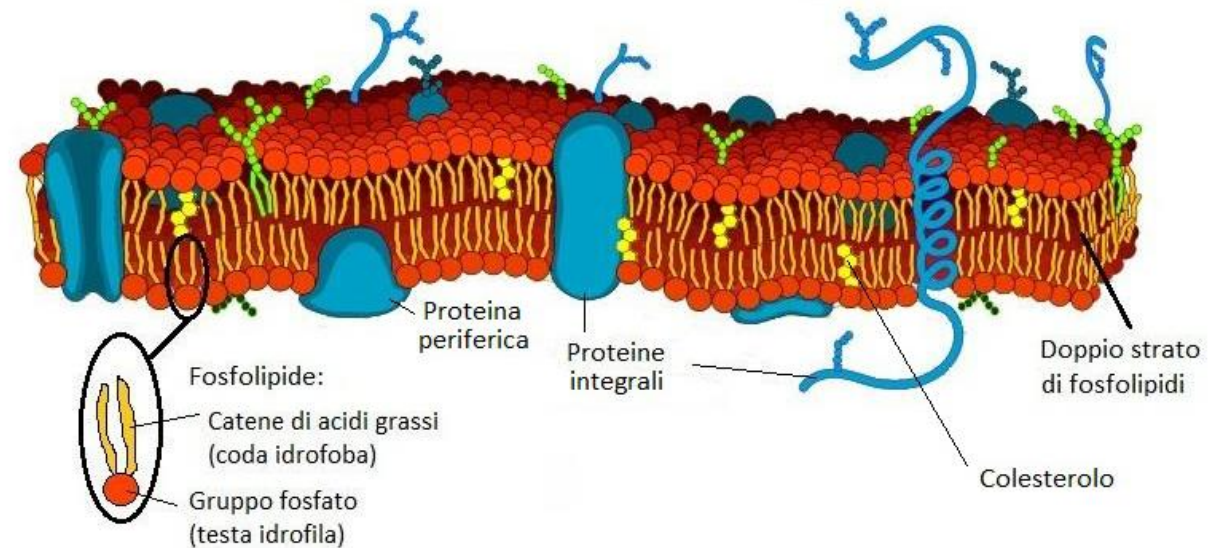
- » Descrive i processi di:
- » **Assorbimento (A)**
- » **Distribuzione (D)**
- » **Metabolismo (M)**
- » **Escrezione (E)**

delle sostanze potenzialmente tossiche.



# Assorbimento (A)

- » Indica il passaggio delle sostanze attraverso le membrane cellulari.
- » Rappresenta il movimento cinetico delle molecole di una sostanza dal sito di somministrazione o di contatto al sito di azione.
- » **Assorbimento esterno**: è il movimento delle molecole dal sito di contatto al sangue.
- » **Assorbimento interno**: è il movimento delle molecole dal sangue alla biofase



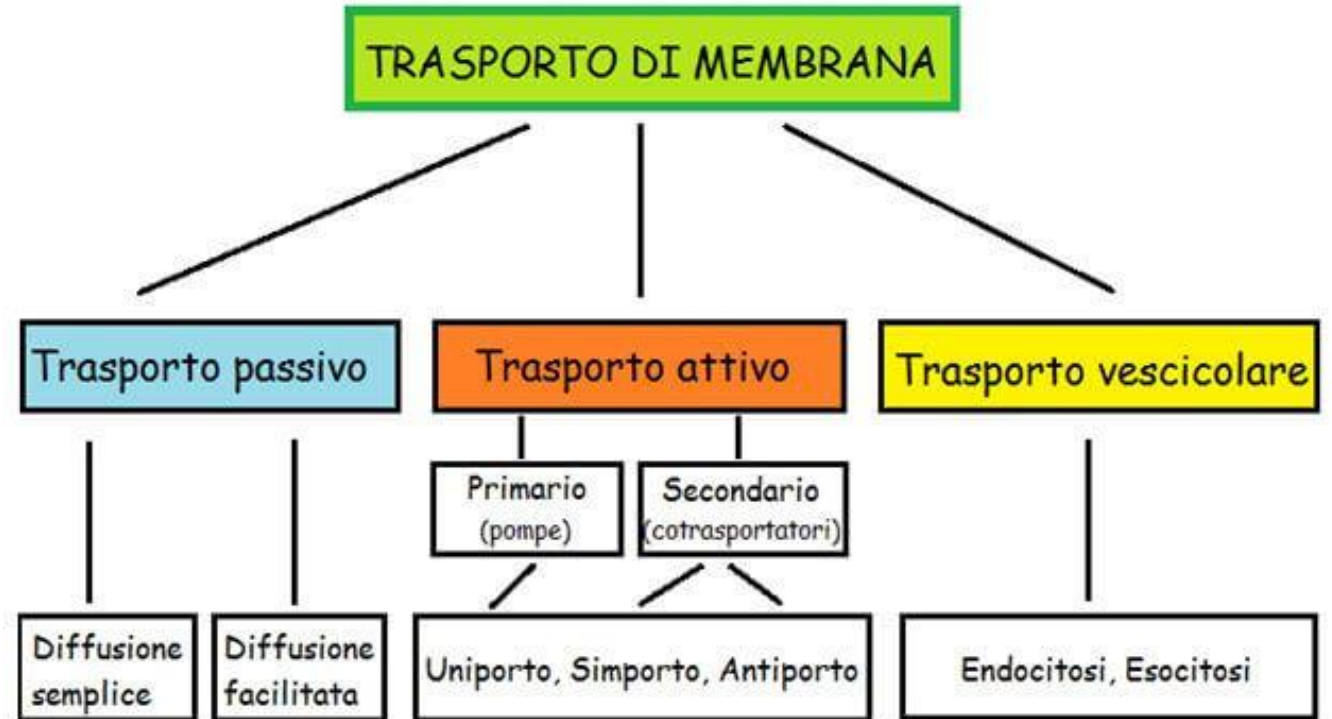
# Fattori che influenzano l'Assorbimento

» Fattori dipendenti dal farmaco:

1. Dimensioni e forma molecolare
2. Solubilità
3. Grado di ionizzazione
4. Solubilità della forma ionizzata

■ Fattori dipendenti dalle membrane:

1. Composizione
2. spessore.



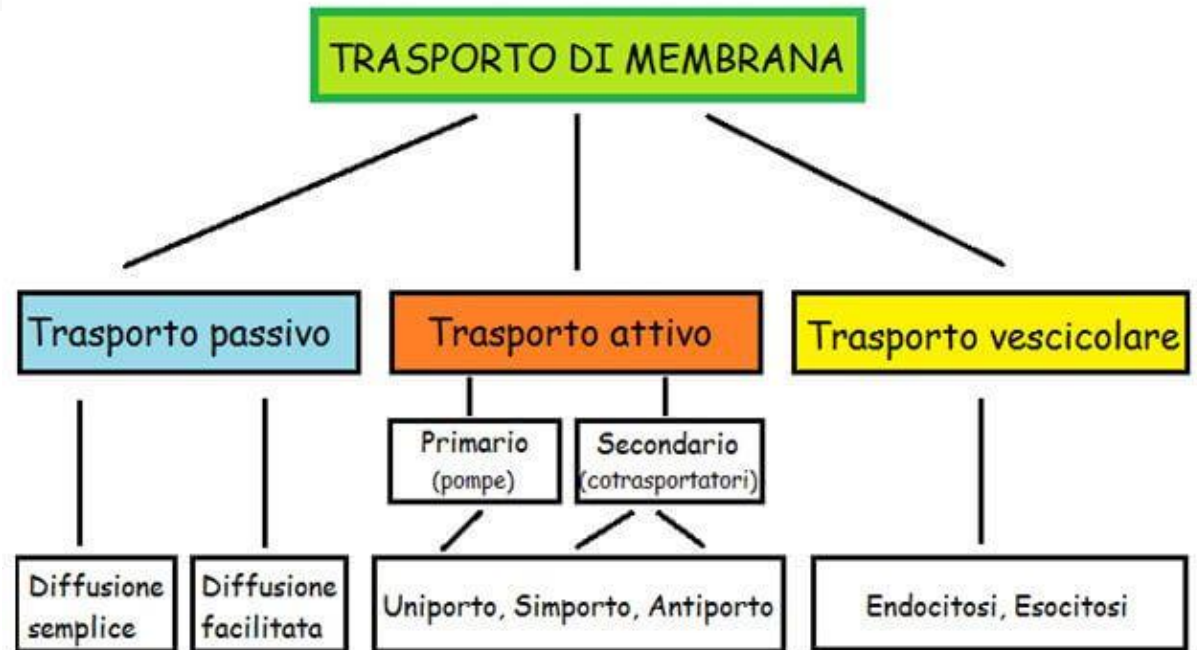
# Fattori che influenzano l'Assorbimento

» Fattori dipendenti dal farmaco:

1. Dimensioni e forma molecolare
2. Solubilità
3. Grado di ionizzazione
4. Solubilità della forma ionizzata

■ Fattori dipendenti dalle membrane:

1. Composizione
2. spessore.



- ❑ SOSTANZE INSOLUBILI fagocitosi-pinocitosi
- ❑ SOSTANZE IDROSOLUBILI NON IONIZZABILI  $< 4 \text{ \AA}$  filtrazione
- ❑ SOSTANZE IDROSOLUBILI NON IONIZZABILI  $> 4 \text{ \AA}$  trasporto specializzato
- ❑ SOSTANZE IDROSOLUBILI IONIZZATE a pH organici trasporto specializzato
- ❑ SOSTANZE LIPOSOLUBILI ELETTROLITI DEBOLI diffusione
- ❑ SOSTANZE LIPOSOLUBILI APOLARI diffusione



# Assorbimento: Legge di Fick

- ✓ Per le sostanze che non siano elettroliti deboli vale la **LEGGE DI FICK**:

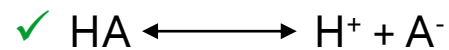
$$\text{Flusso molare} = \frac{(C_1 - C_2) \times D \times A}{d}$$

- Flusso molare: velocità del passaggio dal compartimento 1 al compartimento 2
- $C_1$  e  $C_2$ : concentrazione della sostanza nei due compartimenti
- $D$ : coefficiente di diffusione
- $A$ : area della membrana
- $d$ : spessore delle membrane da attraversare

# Assorbimento: Equazione di Henderson-Hasselback

✓ Per gli elettroliti deboli (acidi e basi) vale  
**L'EQUAZIONE DI HENDERSON-HASSELBACK:**

✓ I farmaci sono acidi deboli o basi deboli. Un acido debole o una base debole si trova in equilibrio con la sua forma indissociata e la sua forma dissociata:



✓ La forma AH, quindi la forma indissociata, è apolare ed è quindi favorevole all'assorbimento perché è molto lipofila. La forma dissociata è quella meno lipofila, quindi l'assorbimento sarà più difficile. Se prevale la forma indissociata sarà quindi favorito il passaggio della membrana attraverso diffusione passiva.

✓ La **costante di dissociazione** ( $K_a$ ) è il rapporto tra la forma dissociata e quella indissociata. Quindi se il valore della  $K_a$  è minore, la forma indissociata prevale. Questa regola vale sia per un acido debole che per una base debole.

✓  $K_a = [H^+] [A^-] / [AH]$

✓ L'equazione di Henderson-Hasselbach mette in relazione con un rapporto la forma protonata con la forma non protonata di un acido o di una base debole alla  $pK_a$  della molecola.

✓ Ricordiamo che la  $pK_a$  della molecola corrisponde al valore di pH a cui il farmaco si trova al 50% in forma dissociata ed in forma indissociata.

✓ Quindi possiamo dire che nell'equazione di Henderson-Hasselbach c'è una correlazione tra pH dell'ambiente,  $pK_a$  e forma protonata e non protonata.

✓  $\text{Log } [A^-]/[AH] = \text{pH} - \text{p}K_a$  ovvero

✓  $[A^-]/[AH] = 10^{(\text{pH} - \text{p}K_a)}$

✓ **Esempio:**

pH ambiente gastrico = 1,4

pH plasma = 7,4

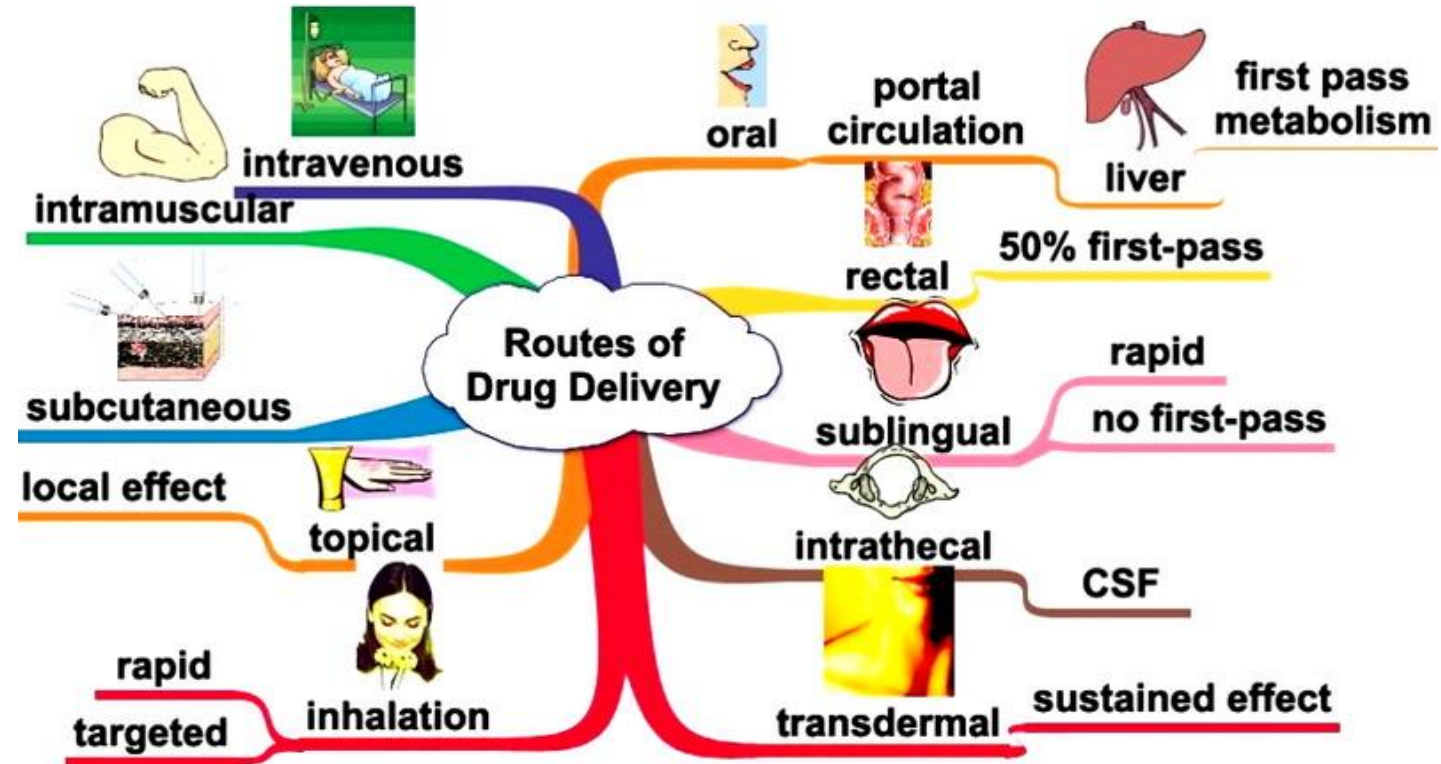
$pK_a$  sostanza = 3,4 (acido debole)

$[A^-]/[AH] = 10^{(1,4-3,4)} = 10^{-2}$  prevale la forma indissociata 😊

$[A^-]/[AH] = 10^{(7,4-3,4)} = 10^4$  prevale la forma dissociata ☹️

# Assorbimento: Vie di Somministrazione

- I. ORALE
- II. SUBLINGUALE
- III. RETTALE
- IV. PARENTERALE: ENDOVENOSA, SOTTOCUTANEA, INTRADERMICA, INTRAMUSCOLARE, INTRA-ARTERIOSA, INTRATECALE, INTRAPERITONEALE
- V. POLMONARE
- VI. TOPICA (mucose e cute)



# Assorbimento: Vie di Somministrazione Parenterali

- I. Da un punto di vista pratico l'assorbimento delle sostanze è collegato alla via di somministrazione delle stesse.

<b>ENDOVENA</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>•100% assorbimento</li><li>•effetti immediati</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•utilizzata in emergenza</li><li>•possono essere iniettati grossi volumi</li><li>•si possono somministrare sostanze irritanti diluite (KCl)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•aumentato rischio di effetti collaterali</li><li>•l'infusione deve essere lenta</li><li>•non utilizzabile per sostanze oleose o insolubili</li></ul>
<b>INTRAMUSCOLO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>•assorbimento rapido per le soluzioni acquose</li><li>•lento e prolungato per le preparazioni a lento rilascio</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•si possono utilizzare volumi moderati</li><li>•si utilizza per somministrare sostanze oleose</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•non utilizzabile se il pz. è in terapia con anticoagulanti</li><li>•dolore o necrosi (rara) utilizzando sostanze irritanti</li></ul>
<b>SOTTOCUTANEA</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>•assorbimento rapido per le soluzioni acquose</li><li>•lento e prolungato per le preparazioni a lento rilascio</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•è utilizzata per soluzioni insolubili e per l'impianto di pellet solidi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•non utilizzabile per grossi volumi</li><li>•dolore o necrosi (rara) utilizzando sostanze irritanti</li></ul>

# Assorbimento: Vie di Somministrazione Enterale

- I. Da un punto di vista pratico l'assorbimento delle sostanze è collegato alla via di somministrazione delle stesse.

<b>PER OS</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• assorbimento variabile, che dipende da molti fattori</li><li>• gli effetti compaiono dopo almeno 45-60 minuti</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• è la via più economica e più sicura</li><li>• possibilità di utilizzo di <b>PREPARAZIONI RETARD</b></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• il pz deve essere sveglio e collaborante</li><li>• l'assorbimento incompleto può non permettere il raggiungimento della concentrazione minima efficace</li><li>• effetto di primo passaggio</li></ul>
<b>RETTALE</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• assorbimento variabile e incompleto</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ha una latenza d'azione minore rispetto alla via per os</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• parziale effetto di primo passaggio</li></ul>
<b>SUBLINGUALE</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• assorbimento rapido</li><li>• l'effetto compare dopo pochi minuti</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• utilizzata in emergenza</li><li>• evita l'effetto di primo passaggio</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• corretta assunzione del farmaco</li><li>• aumentato rischio di effetti collaterali</li></ul>

# Distribuzione (D)

- » La distribuzione è quel processo che permette alla sostanza una volta assorbita di raggiungere i vari distretti dell'organismo in concentrazioni e in tempi diversi.
- » E' un processo di ripartizione tra tre fasi liquide:
  - Plasma
  - Fluidi extracellulari
  - Fluidi intracellulari

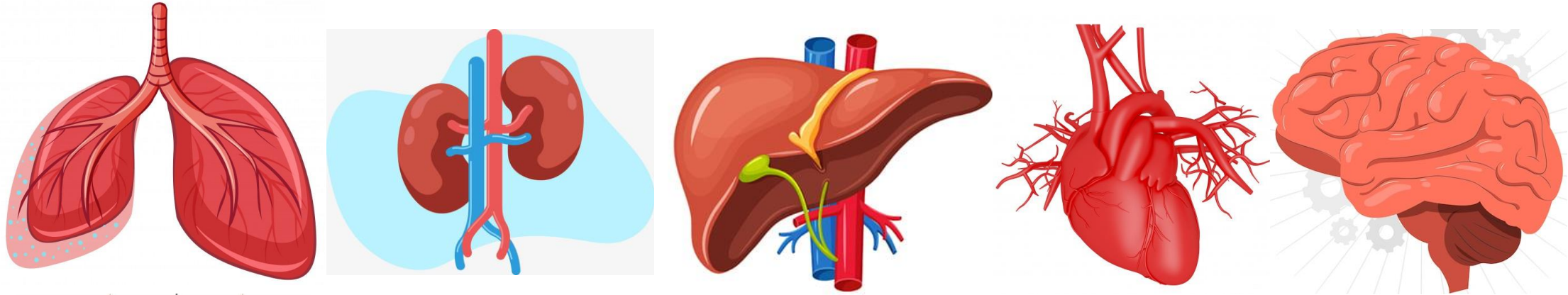
## Fattori che influenzano la distribuzione:

- » Peso molecolare
- » Caratteristiche fisico-chimiche del farmaco
- » Fissazione proteica della molecola
- » Irrorazione degli organi
- » Presenza di barriere
- » Affinità specifica con i tessuti
- » Condizione del soggetto

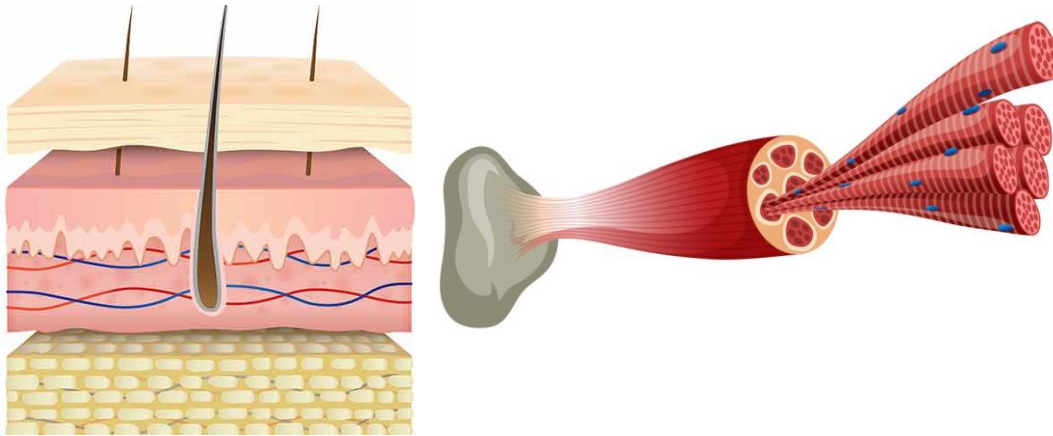


# Distribuzione: Perfusione tissutale

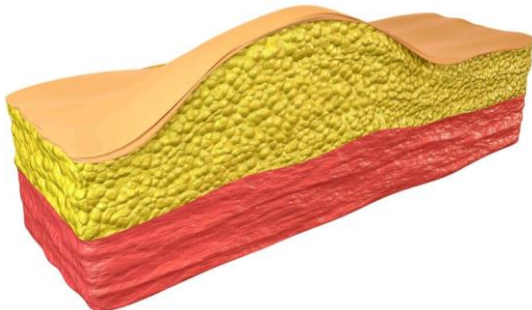
» Alta:



» Media:



» Bassa

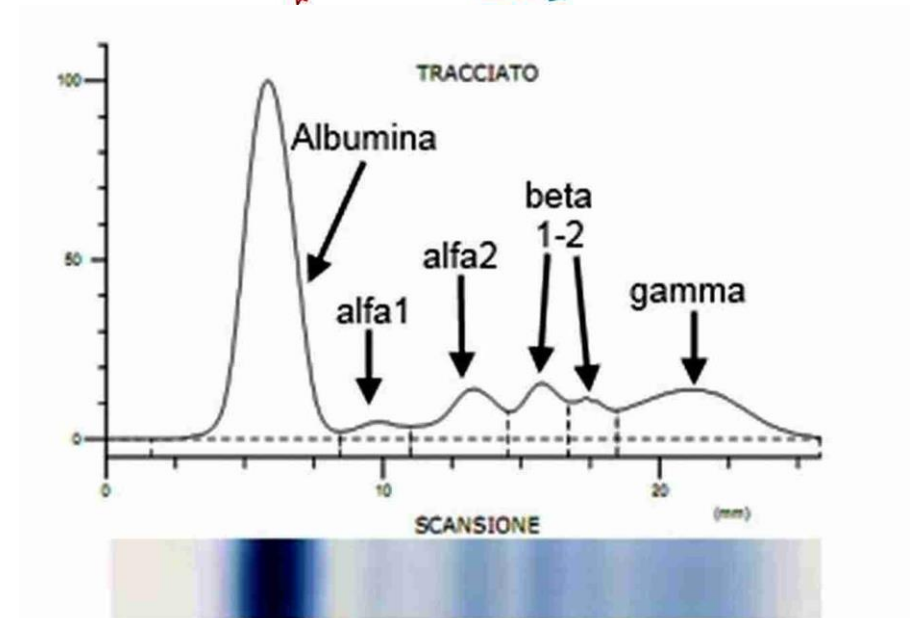
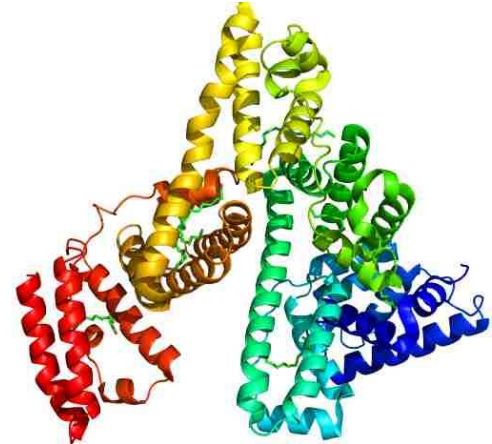


Sostanze altamente **liposolubili** sono presenti in concentrazioni maggiori in tessuti meno irrorati ma con maggiore capacità ritentiva:

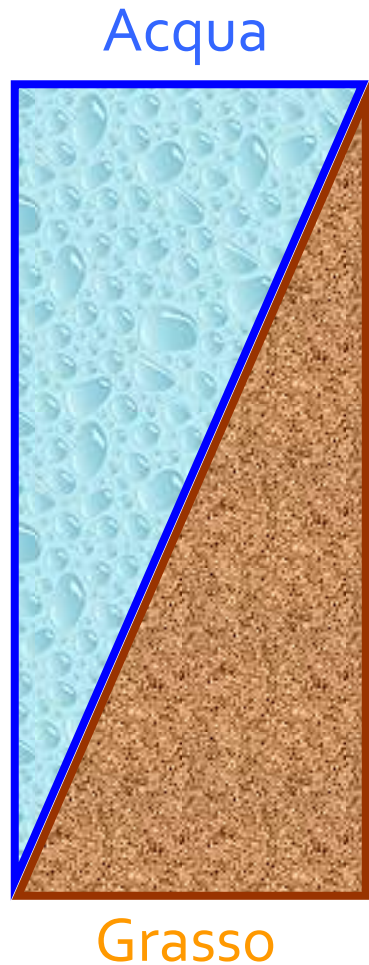
- **Cheratina:** (griseofulvina, arsenico)
- **Fegato:** (metalli pesanti, vit. B<sub>12</sub>)
- **Rene:** (metalli pesanti, aminoglicosidi)
- **Adipe:** (steroidi, pesticidi)
- **Tessuto osseo:** (bifosfonati, piombo, stronzio)

# Distribuzione: Legame alle proteine

- » Il farmaco legato alle proteine non attraversa la membrana
- » C'è un equilibrio continuo tra la parte libera e quella legata
- » Albumina: Composti debolmente acidi
- » Globuline: Composti debolmente basici
- » Transcortina: ad es. corticosteroidi, tiroxina, vit. B12
- » Lipoproteine: ad es. steroidi, vit. A e D, ciclosporina, chinidina, alcuni pesticidi



# Distribuzione: Condizioni del soggetto e Barriere



Neonato

Bambino

Adolescente

Adulto

Anziano

Anziano-anziano

Ogni modifica delle proteine plasmatiche influisce sulla quota di farmaco libera

Barriera ematoencefalica

Barriera ematotesticolare

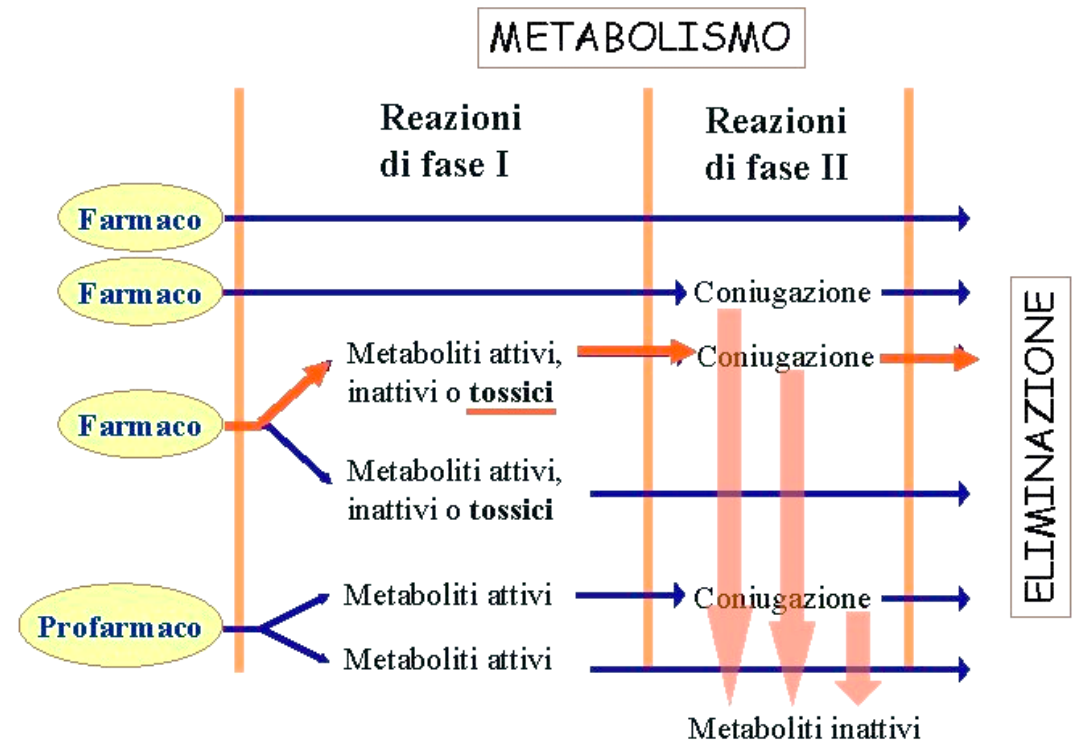
Barriera placentare

# Metabolismo: Perché?

- » Le caratteristiche lipofile, che promuovono il passaggio di queste sostanze attraverso le membrane biologiche e il conseguente accesso ai siti d'azione, ostacolano la loro eliminazione dall'organismo.
- » La biotrasformazione degli xenobiotici ha un'importanza fondamentale per la cessazione della loro attività biologica e per l'eliminazione dall'organismo.
- » Il metabolismo fa sì che i prodotti del metabolismo (metaboliti) siano **idrosolubili** (eliminabili con l'urina).
- » Gli enzimi metabolizzanti sono in genere poco specifici, metabolizzano cioè molti substrati diversi (ma con un dominio strutturale comune).
- » Alcuni enzimi sono deputati solo al metabolismo dei xenobiotici, altri sono coinvolti anche nella sintesi o metabolismo di composti endogeni.
- » L'organo più ricco di enzimi metabolizzanti è il **fegato**. Altri organi o tessuti con significativa capacità metabolica sono i polmoni, i reni, il sangue.
- » Alcuni tessuti hanno un'elevata concentrazione di enzimi metabolizzanti (mucosa nasale, cristallino), ma il loro contributo al metabolismo sistemico è pressoché nullo dato il loro piccolo volume.

# Metabolismo (M) e Degradazione

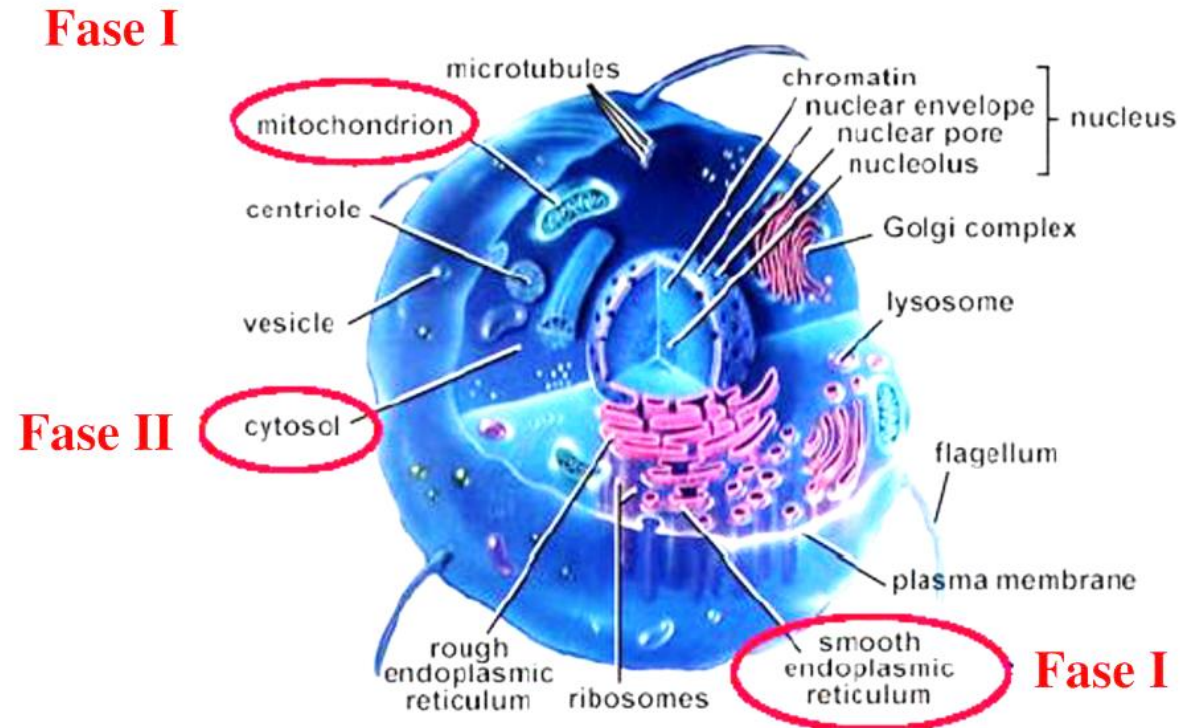
- » Per **metabolismo** intendiamo le trasformazioni (chimiche) a cui va incontro lo xenobiota, una volta assorbito, ad opera di enzimi appartenenti al corredo genico dell'organismo.
- » La **degradazione** (o metabolismo presistemico) è invece una trasformazione chimica operata e da enzimi non appartenenti al corredo genico dell'organismo oppure operata da agenti chimico-fisici.





# Metabolismo: Reazioni di Fase I e II

- » Le reazioni di metabolizzazione che avvengono a livello epatico vengono comunemente divise in:
- » **Reazioni di Fase I** o di funzionalizzazione e si verificano ad opera di enzimi localizzati principalmente nel reticolo endoplasmatico rugoso (microsomi)
- » **Reazioni di Fase II** o di coniugazione avvengono ad opera di enzimi localizzati principalmente nel citoplasma





# Metabolismo: Reazioni di Fase I

- » Sono le reazioni di:
- » **Idrolisi**
- » **Riduzione**
- » **Ossidazione.**
- » Portano in genere all'introduzione o smascheramento di un gruppo nucleofilo (-OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -COOH).
- » Ciò causa solo un modesto aumento dell'idrofilia. Tuttavia, il gruppo funzionale nucleofilo fornisce un punto di attacco per le reazioni di fase II.
- » Gli enzimi della fase I producono una biotrasformazione, alterando la fisionomia chimico-fisica del composto attraverso l'aggiunta o l'eliminazione di gruppi funzionali (funzionalizzazione), in modo che il metabolita sia più idoneo a reagire con gli enzimi di coniugazione della fase II
- » Le reazioni di fase I determinano in genere perdita dell'attività tossicologica (modificazione della struttura chimica e della capacità di interagire con il recettore).

# Metabolismo: Reazioni di Fase I, non solo metabolismo

- » In alcuni casi, tuttavia, i prodotti delle reazioni di fase I sono biologicamente attivi.
- » I pro-farmaci ad esempio sono attivati dalle reazioni di fase I.
- » Nelle reazioni di fase I, soprattutto le reazioni di ossidazione, si possono formare metaboliti tossici.
- » Infatti molti xenobiotici (dotati o meno di attività propria) sono trasformati in composti potenzialmente tossici dal metabolismo, si parla allora di **bioattivazione** (benzene, IPA, idrocarburi alogenati, aflatossine).
- » I metaboliti tossici possono essere ulteriormente metabolizzati, con formazione di composti non tossici (detossificazione).

# Metabolismo: Enzimi Reazioni di Fase I

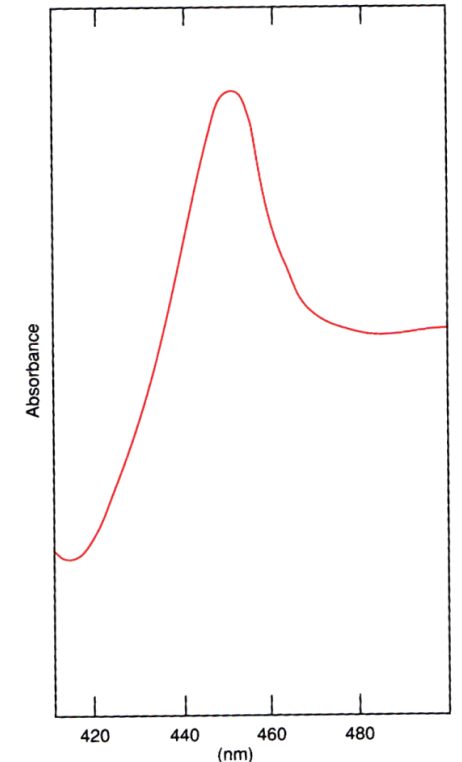
## SISTEMA CITOCROMO P<sub>450</sub> MONOOSSIGENASI

- » E' costituito da proteine di membrana, contenenti un gruppo eme, localizzate nel reticolo endoplasmatico, prevalentemente a livello epatico. Producono una caratteristica banda di assorbimento spettrofotometrico a 450 nM.
- » Da un punto di vista enzimatico può essere considerata come una **ossidasi a funzione mista** che catalizza diversi tipi di reazione: idrossilazione alifatica o aromatica; de-alchilazione di un eterodimero; ossigenazione di un eterodimero; trasferimento di un gruppo ossidativo.

Tipi di reazioni	Enzima
<b>Fase I</b> Ossidazione	<b><u>Citocromo P<sub>450</sub></u></b> Alcol deidrogenasi Aldeide deidrogenasi Monossigenasi flaviniche Monoaminossidasi
Riduzione	Chinone reductasi (DT diaforasi) Citocromo P <sub>450</sub> reductasi
Idrolisi	Epossido idrolasi

# Metabolismo: Nomenclatura CYP 450

- » Sono descritte 74 famiglie di CYP<sub>450</sub>, 14 sono presenti nei mammiferi e 3 sono quelle principalmente coinvolte nel metabolismo degli xenobiotici (CYP<sub>1</sub>, CYP<sub>2</sub> e CYP<sub>3</sub>).
- » Esempio nomenclatura **CYP<sub>2</sub>D<sub>6</sub>**
- » **CYP** = citocromo P<sub>450</sub>
- » **2** = famiglia
- » **D** = sub-famiglia
- » **6** = specifico isoenzima (specifico gene)



Il CYP<sub>450</sub> assorbe a 450 nm quando il Ferro è nello stato ridotto (Fe<sup>2+</sup>) e legato al CO (monossido di carbonio)

# Metabolismo: Reazioni di Fase II

- » Gli enzimi della fase II catalizzano reazioni biosintetiche che richiedono energia per essere espletate e sono situati nel citoplasma.
- » Queste reazioni convertono sostanze esogene o endogene in composti di PM più elevato, provvisti di gruppi idrofili e più facilmente eliminabili con le urine, la bile ed altri meccanismi.
- » Composti endogeni usati per le reazioni di coniugazione sono:
  - » 1) l'acido glucuronico
  - » 2) i solfati
  - » 3) gli aminoacidi
  - » 4) i gruppi acetili
  - » 5) il glutatione

Il glutatione ridotto (GSH) ha un ruolo di primaria importanza nella detossificazione ed è composto da 3 a.a.: acido glutammico, cisteina e glicina

Tipi di reazioni	Enzima
Fase II Coniugazione	UDP glucuronil transferasi Solfotransferasi N-acetil transferasi Metiltransferasi Coniugazione con amminoacidi Glutatione transferasi

# Metabolismo: Reazioni di Fase II-GSH

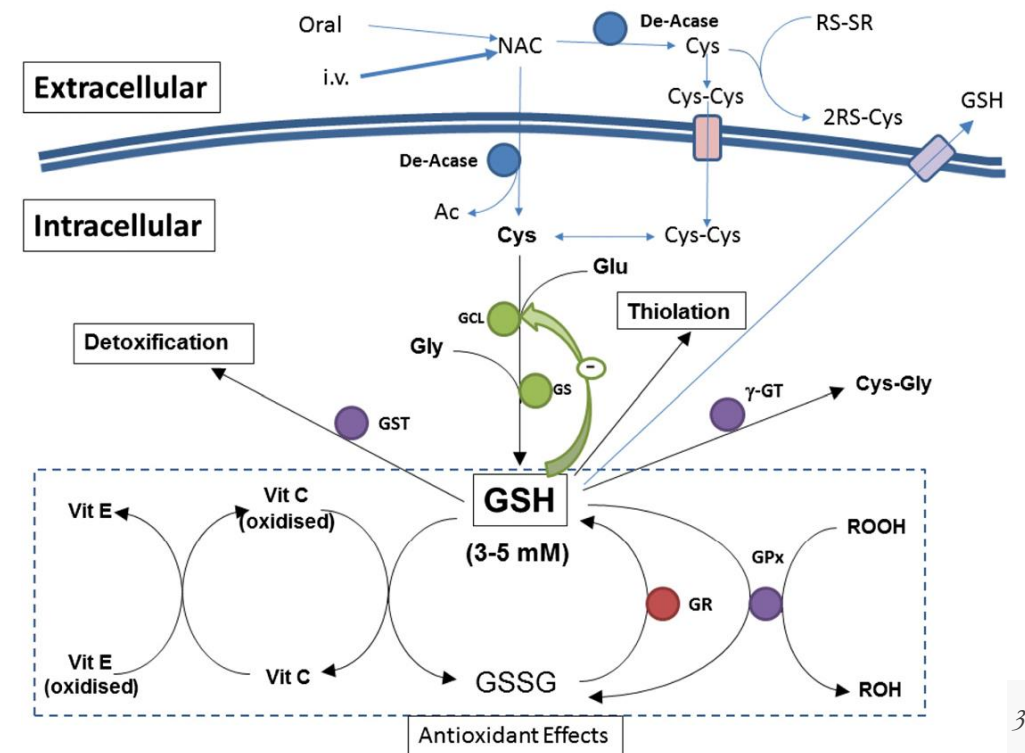
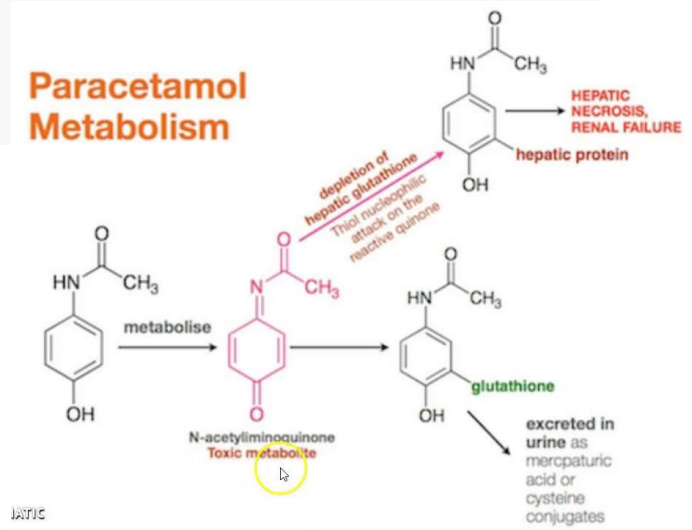
## » INTOSSICAZIONE DA PARACETAMOLO

### » Meccanismo di tossicità

- Dosaggi elevati portano ad una deplezione delle riserve di GSH e ad una saturazione dei meccanismi di glucuronidazione e solfatazione
- Il metabolita reattivo si lega covalentemente alle macromolecole cellulari portando a necrosi epatica e danni agli eritrociti (stress ossidativo con formazione di corpi di Heinz e MetHb)

### » Terapia

- Carbone attivo
- **ANTIDOTO N-acetilcisteina** (riduce il danno epatico): 150 mg/kg IV seguito da 50 mg/kg x OS ogni 8 h per almeno due giorni)
- Ossigenoterapia e Fluidoterapia
- Acido ascorbico 20 mg/kg per OS (per ridurre MetHb)





# Metabolismo: Induzione enzimatica

- Numerosi agenti (farmaci, xenobiotici, ecc..) possono indurre l'aumento della sintesi degli enzimi metabolizzanti, sia di Fase I che di Fase II.
- Gli induttori possono essere classificati in relazione allo spettro di induzione in selettivi e ad ampio spettro; vengono classificati in relazione alla tipologia di enzimi che inducono (bifunzionali, sia enzimi di Fase I che di Fase II o monofunzionali).
- Possono anche essere classificati in relazione alla tipologia di sostanza inducente:

1. Induttori diossina-simili
2. Induttori fenobarbitale-simili
3. Induttori rifampicina-simili
4. Induttori etanolo-simili

## Esempi di tossici induttori

Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)

Pesticidi alogenati (DDT)

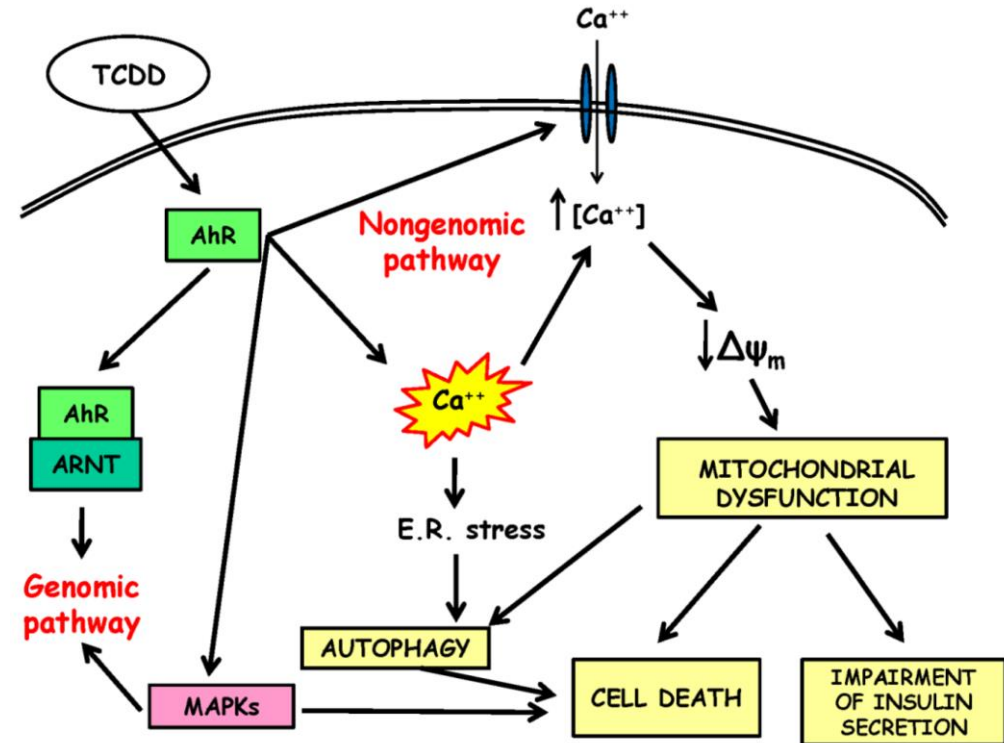
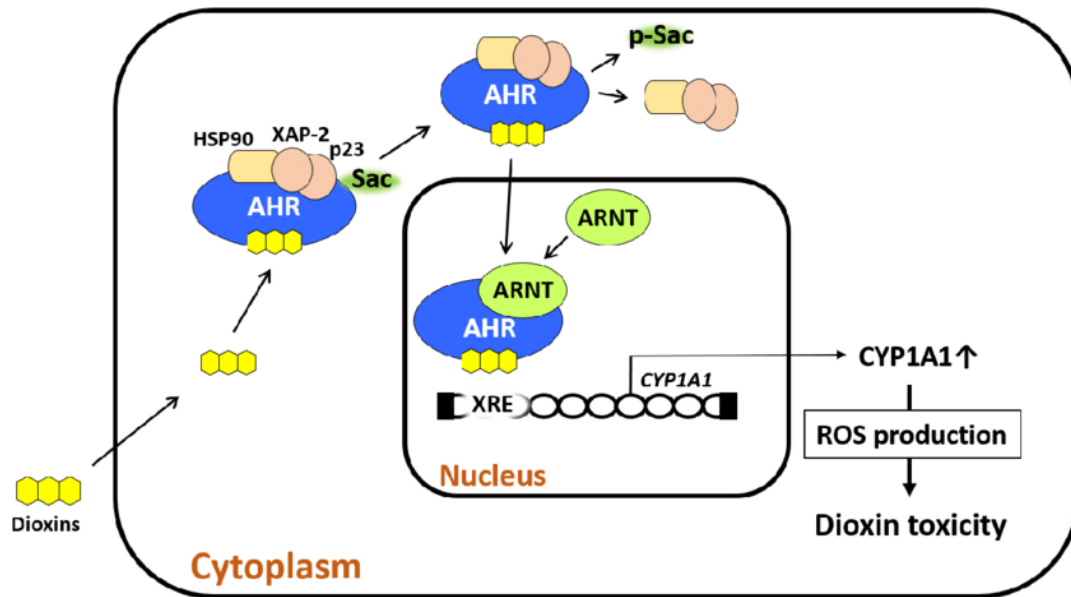
Policlorobifenili (PCB)

Polibromobifenili (PBB)

Diossine clorurate (TCDD)

Enzima	Substrati	Induttori
CYP1A2	Paracetamolo Estradiolo Teofillina Verapamil Warfarin	Carne alla brace Fumo di sigaretta
CYP2C9	Diclofenac Fenitoina Piroxicam Tetraidrocannabinolo Tolbutamide	Rifampicina
CYP2C19	Diazepam Esobarbital Omeprazolo Pentamidina Propranololo	Rifampicina
CYP2D6	Debrisoquina Desipramina Encainide Mexiletina Nortriptilina	Non conosciuti
CYP3A4	Amiodarone Lovastatina Nifedipina Tamoxifene Terfenadina	Carbamazepina Fenobarbital

# Metabolismo: Induzione enzimatica mediata da AhR



- » I recettori AhR sono recettori intracitoplasmatici legati ad alcune proteine (HSP-90, XAP-2, p23, Sac). Una volta legati ai composti tossici, questo recettore si stacca dal complesso proteico e trasloca nel nucleo dove si lega al trasportatore nucleare ARNT. Il complesso AhR-ARNT si lega ad alcuni elementi di trascrizione codificanti la sintesi dei CYP (CYP<sub>1</sub>). L'incremento della sintesi dei CYP si traduce in diversi effetti tossici a livello cellulare.

# Metabolismo: Induzione enzimatica, effetti

- » Gli effetti dell'induzione enzimatica possono essere molteplici:
1. Aumento della velocità di metabolizzazione di altri farmaci somministrati contemporaneamente, si ha infatti una diminuzione delle concentrazioni plasmatiche medie con diminuzione dell'efficacia e rischio di insuccesso terapeutico.
  2. Attivazione dei composti a metaboliti tossici che agiscono con meccanismo non specifico.

Interazioni tra farmaci a livello degli isoenzimi del CYP 450.			
<i>Isoenzima</i>	<i>Sostanza che determina alterazione</i>	<i>Farmaco che subisce alterazione</i>	<i>Conseguenze cliniche</i>
CYP1A2	Fluvoxamina	Teofillina	Tachicardia, palpitazioni, aritmie, anoressia, vomito, nausea, diarrea, disidratazione, albuminuria, febbre, insonnia, irritabilità, delirio, convulsioni
CYP2C9	Fluconazolo	Warfarin, Fenitoina	Marcato aumento del tempo di protrombina (emorragie) e tossicità da fenitoina
CYP2E1	Alcol	Acetaminofene (Paracetamolo)	Epatotossicità
CYP2D6	Fluoxetina	Propranololo	Vertigini, perdita di coscienza, alterazioni elettrocardiografiche
CYP3A4	Fluoxetina	Calcio-antagonisti	Nausea, vampate, edema, mal di testa
	Eritromicina, Ketoconazolo	Terfenadina	Aritmie, <i>torsades de pointes</i> , allungamento dell'intervallo QT, arresto cardiaco
	Eritromicina	Carbamazepina	Nistagmo, atassia, innalzamento della vasopressina (con conseguente ritenzione idrica), necrosi renale acuta, blocco atrioventricolare (con arresto cardiaco)
	Fluconazolo	Cisapride	<i>Torsades de pointes</i> , prolungamento dell'intervallo QT
	Fenobarbital, Rifampicina	Warfarin, Ciclosporina, Contraccettivi orali	Ridotto effetto dell'anticoagulante, della ciclosporina e dei contraccettivi

# Metabolismo: Inibizione enzimatica

- » Gli inibitori enzimatici agiscono diminuendo la trasformazione metabolica di altri xenobiotici da parte dell'enzima inibito, senza modificare la sintesi proteica.
- » Gli inibitori possono agire attraverso un meccanismo di competizione tra substrati che avviene quando due o più xenobiotici presenti simultaneamente nell'organismo, necessitano di essere biotrasformati dallo stesso enzima (Pre-metabolizzazione)
- » Essi possono anche agire come inibitori suicidi, dove una volta metabolizzato la molecola forma degli addotti stabili con l'enzima stesso (Post-metabolizzazione)

Enzima	Substrati	Inibitori
CYP1A2	Paracetamolo Estradiolo Teofillina Verapamil Warfarin	Furafillina
CYP2C9	Diclofenac Fenitoina Piroxicam Tetraidrocannabinolo Tolbutamide	Sulfafenazolo Sulfinpirazone
CYP2C19	Diazepam Esobarbital Omeprazolo Pentamidina Propranololo	Tranilcipromina
CYP2D6	Debrisoquina Desipramina Encainide Mexiletina Nortriptilina	Chinidina Fluoxetina
CYP3A4	Amiodarone Lovastatina Nifedipina Tamoxifene Terfenadina	Ketoconazolo Troleandomicina

# Eliminazione (E)

- » Le vie di eliminazione delle sostanze tossiche sono principalmente rappresentate da quella urinaria e quella epatica seguite da quella polmonare.
- » In termini generali le sostanze idrosolubili e ionizzati vengono escrete per via renale.
- » La via polmonare elimina sostanze volatili.
- » Gli xenobiotici e i metaboliti liposolubili e non ionizzati vengono escreti con la bile, la saliva, il succo pancreatico ed intestinale per venir poi eliminati attraverso le feci.

## Principali

Renale  
Epatica (bile)

## Secondarie

Polmonare  
Intestinale  
Cutanea  
Salivare  
Lacrimale  
Mammaria



# Eliminazione (E): Via Renale, il NEFRONE

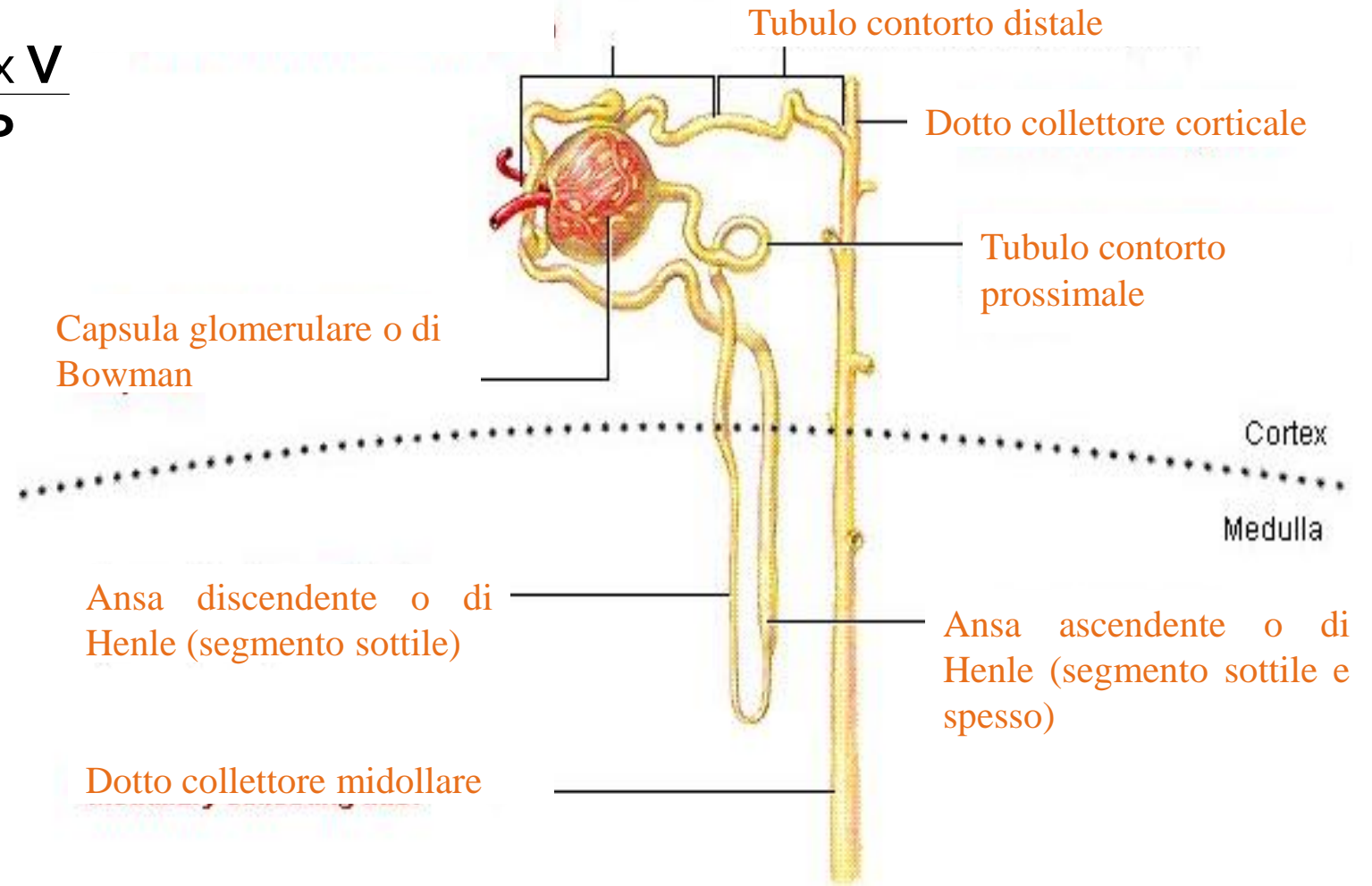
$$\text{CLEARANCE (ml/min)} = \frac{U \times V}{P}$$

U = Concentrazione della sostanza nell'urina

V = Volume urina in 1 min.

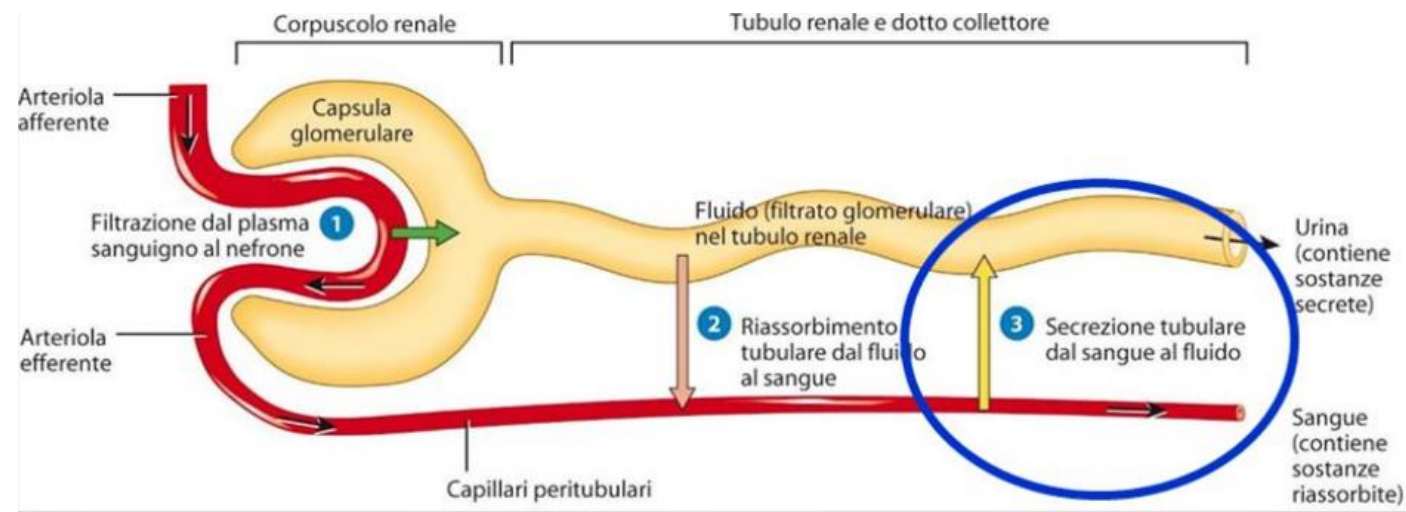
P = Concentrazione della sostanza nel plasma

La clearance renale rappresenta la quantità di plasma che in un minuto viene depurata da una sostanza



# Eliminazione (E): Via Renale

- » Le **sostanze liposolubili** tendono ad essere escreti a concentrazioni simili a quelle presenti nel plasma. La loro concentrazione dipende soprattutto dal volume delle urine.
- » Le **sostanze polari** tendono ad essere escrete nelle urine a concentrazioni superiori a quelle presenti nel plasma, quindi la loro escrezione dipende più dal volume del filtrato glomerulare che dal volume delle urine.
- » I **composti coniugati** si comportano in maniera simile alle sostanze polari, ma possono essere escreti in misura maggiore perché soggetti a meccanismi di secrezione attiva.
- » I composti che si ionizzano facilmente, cioè **acidi e basi**, vengono escreti in maniera pH dipendente.





# Eliminazione (E): Via Biliare

- » Molti xenobiotici si ritrovano in elevate quantità nelle feci, a seguito di eliminazione per via biliare e via gastrointestinale, dove la prima ha un ruolo primario e quella gastrointestinale secondario.
- » I composti con alto peso molecolare e polari che non vengono eliminati per via renale, vengono escreti per via biliare.
- » L'eliminazione per via biliare è generalmente la tipologia di escrezione più lenta, unitamente al fatto che il processo può essere ulteriormente rallentato o ostacolato da ricircolo entero-epatico.
- » In funzione della loro capacità escretiva gli animali vengono suddivisi in: escretori efficienti (ratto, cane e pollo); escretori moderatamente efficienti (gatto e ovino) e scarsamente efficienti (cavia, coniglio, scimmia e uomo)



Ittero delle mucose

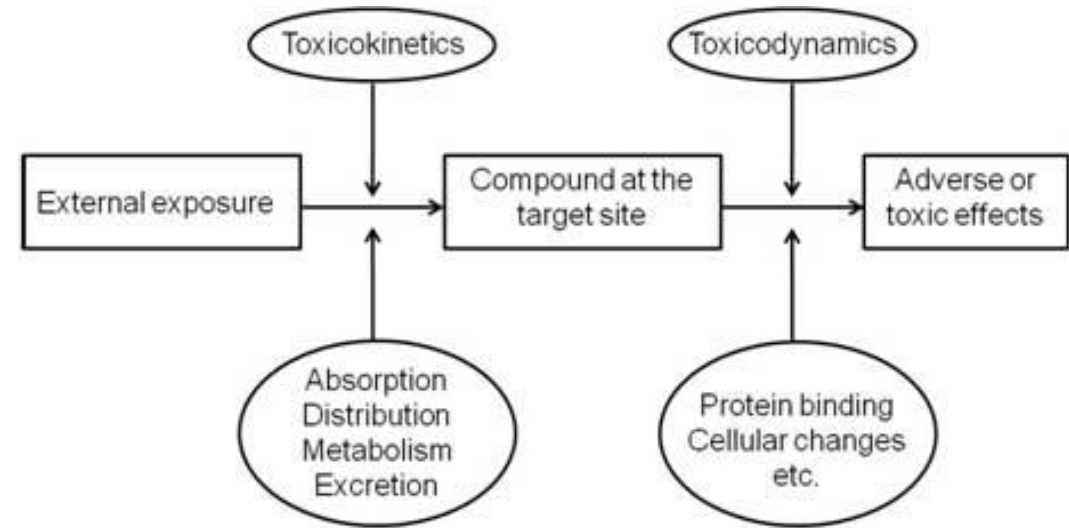
## Tossicità da rame nelle pecore. Eliminazione per via biliare:

1. Funzionalità epatica
2. Alimentazione (presenza di molibdeno)
3. Specie (nella pecora l'eliminazione è molto lenta)

# Tossicodinamica

- » La tossicodinamica studia i meccanismi con cui i tossici interagiscono con l'organismo.
- » Tuttavia mentre molti farmaci agiscono con un meccanismo specifico e reversibile, molti tossici agiscono con meccanismi multipli, poco specifici e spesso irreversibili.
- » Possiamo suddividere i meccanismi d'azione dei tossici in:

1. **MECCANISMI D'AZIONE SPECIFICI O RECETTORIALI**
2. **MECCANISMI D'AZIONE ASPECIFICI O NON RECETTORIALI**

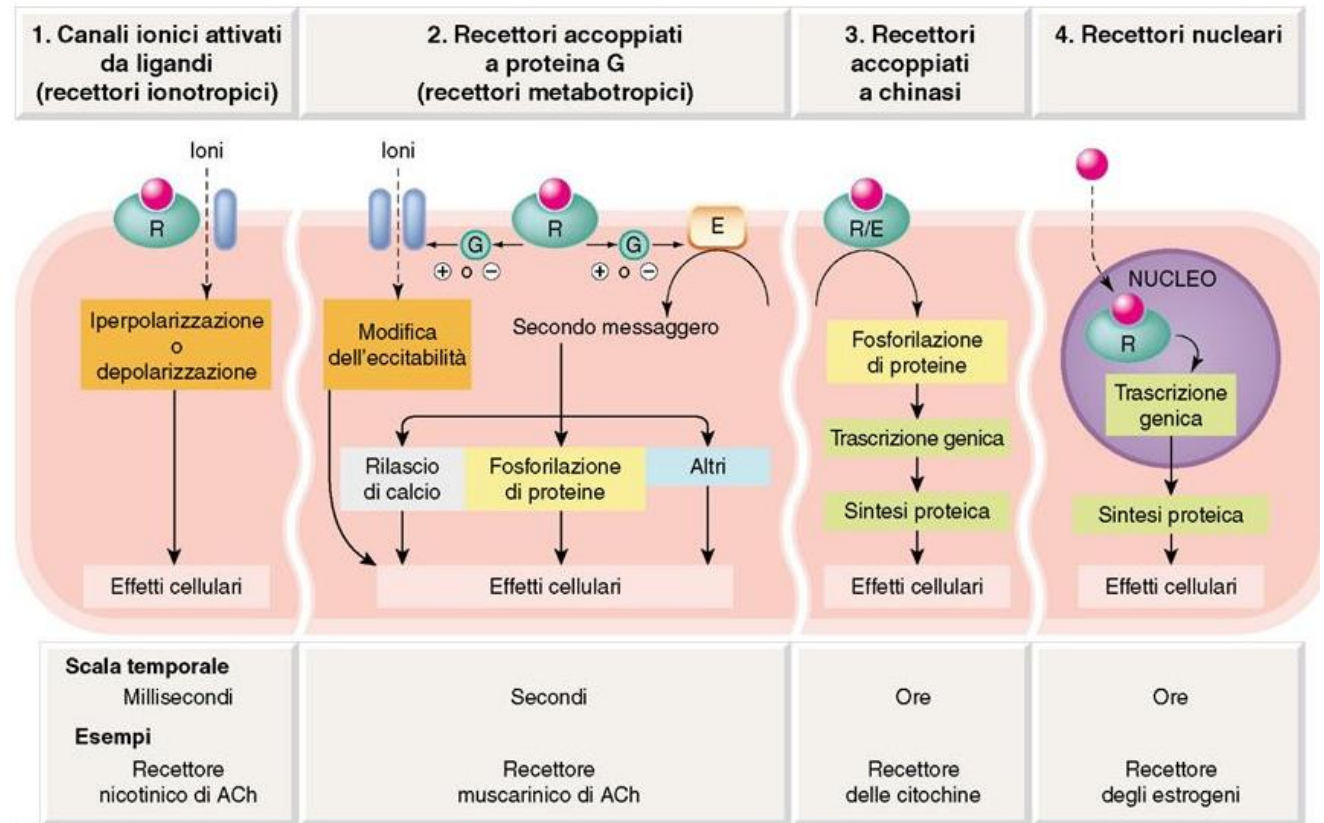


# Tossicodinamica: Meccanismi Recettoriali

- » La risposta recettoriale prevede l'interazione della sostanza con **il recettore** e tutti quei meccanismi che portano alle manifestazione degli effetti.
- » Meccanismo specifico: interazione selettiva con **macromolecole** (quasi sempre **proteine**) che hanno uno specifico ruolo fisiologico. L'interazione avviene in uno specifico sito di legame.
- » Sui recettori si possono allocare più siti di legame .

Macromolecole bersaglio:

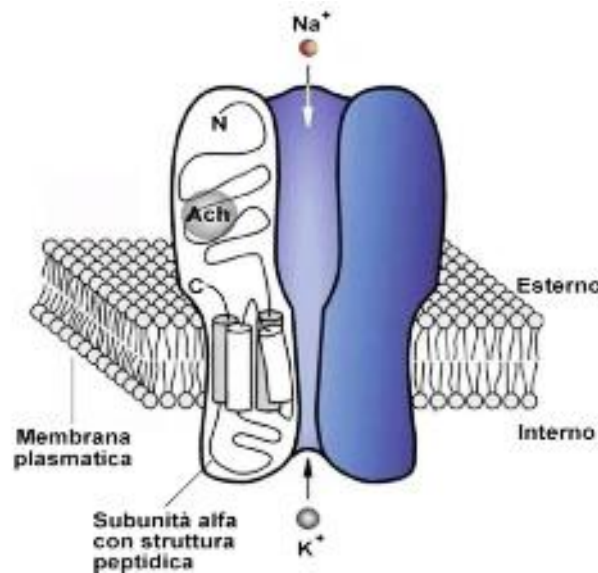
1. Recettori di sostanze endogene
2. Canali ionici
3. Enzimi
4. Trasportatori
5. Proteine strutturali



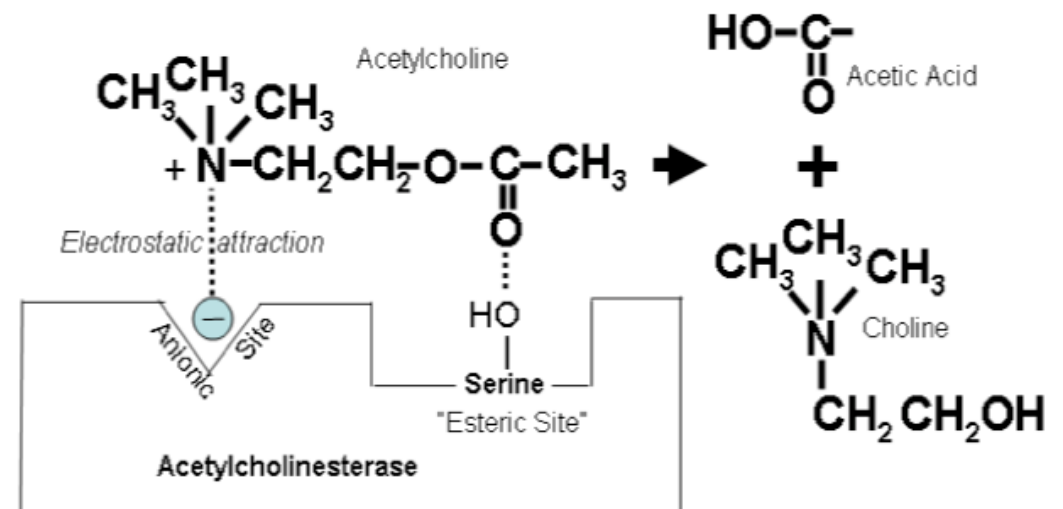
**Il concetto di recettore in Tossicologia non è limitato a quei complessi macromolecolari che mediano gli effetti ad es. neurotrasmettitori, ormoni e fattori trofici, ma è esteso ad ogni struttura molecolare capace di legare il tossico e che, da questo suo legame, subisca un'alterazione della sua normale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

# Tossicodinamica: Meccanismi Recettoriali, esempi

- » La **nicotina** è un alcaloide i cui effetti tossici (tachicardia, ipertensione, convulsioni) sono dovuti all'attivazione del recettore nicotinic (AChR) neuronale ed alle conseguenti depolarizzazioni e risposte eccitatorie.
- » La sindrome nicotinic del tabagismo acuto è un'intossicazione che si verifica attraverso un meccanismo recettoriale



- » 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.





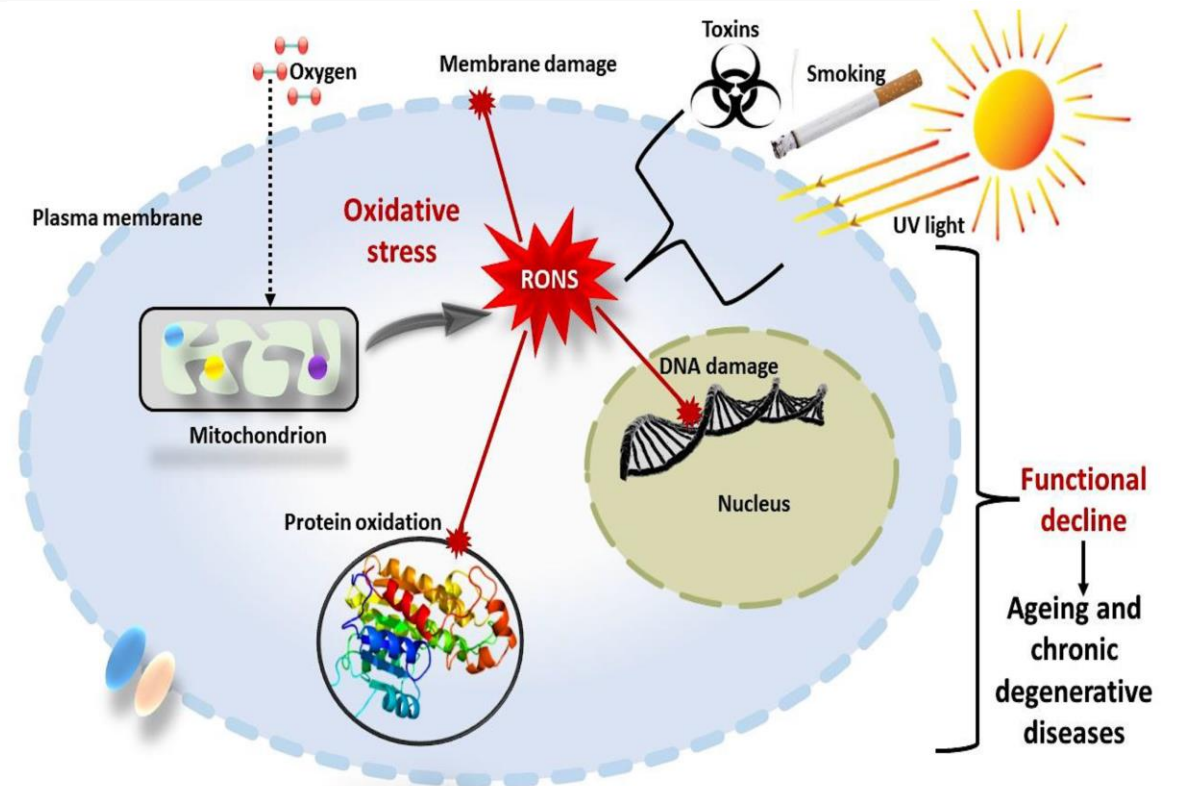
# Tossicodinamica: Meccanismi Non Recettoriali

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

» Questi sono meccanismi non mediati da interazioni selettive con macromolecole, ad esempio:

1. Alterazioni delle proprietà chimico-fisiche dei fluidi biologici
2. Alterazione chimica non specifica

- » 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.



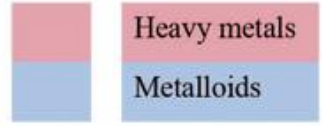
# Tossicodinamica: Meccanismi «misti»

» I metalli «pesanti» riconoscono i gruppi sulfidrilici delle proteine come recettori responsabili della loro azione tossica.

» I metalli riconoscono anche un meccanismo di tossicità non recettoriale che riguardano:

- 1) L'alterazione della fluidità delle membrane cellulari
- 2) La modificazione della struttura degli acidi nucleici

1 H hydrogen 1.0079																	2 He helium 4.0026
3 Li lithium 6.941	4 Be beryllium 9.01218											5 B boron 10.811	6 C carbon 12.0107	7 N nitrogen 14.0067	8 O oxygen 15.9994	9 F fluorine 18.9984	10 Ne neon 20.1797
11 Na sodium 22.9898	12 Mg magnesium 24.3050											13 Al aluminum 26.9815	14 Si silicon 28.0855	15 P phosphorus 30.9738	16 S sulfur 32.065	17 Cl chlorine 35.453	18 Ar argon 39.948
19 K potassium 39.0983	20 Ca calcium 40.078	21 Sc scandium 44.9559	22 Ti titanium 47.867	23 V vanadium 50.9415	24 Cr chromium 51.9961	25 Mn manganese 54.9280	26 Fe iron 55.845	27 Co cobalt 58.9332	28 Ni nickel 58.6934	29 Cu copper 63.546	30 Zn zinc 65.409	31 Ga gallium 69.723	32 Ge germanium 72.64	33 As arsenic 74.9216	34 Se selenium 78.96	35 Br bromine 79.904	36 Kr krypton 83.798
37 Rb rubidium 85.4678	38 Sr strontium 87.62	39 Y yttrium 88.9059	40 Zr zirconium 91.224	41 Nb niobium 92.9064	42 Mo molybdenum 95.96	43 Tc technetium (98)	44 Ru ruthenium 101.07	45 Rh rhodium 102.906	46 Pd palladium 106.42	47 Ag silver 107.868	48 Cd cadmium 112.411	49 In indium 114.818	50 Sn tin 118.710	51 Sb antimony 121.760	52 Te tellurium 127.60	53 I iodine 126.904	54 Xe xenon 131.293
55 Cs cesium 132.905	56 Ba barium 137.327	71 Lu lutetium 174.968	72 Hf hafnium 178.49	73 Ta tantalum 180.949	74 W tungsten 183.84	75 Re rhenium 186.207	76 Os osmium 190.23	77 Ir iridium 192.217	78 Pt platinum 195.084	79 Au gold 196.967	80 Hg mercury 200.59	81 Tl thallium 204.383	82 Pb lead 207.2	83 Bi bismuth 208.980	84 Po polonium (209)	85 At astatine (210)	86 Rn radon (222)
87 Fr francium (223)	88 Ra radium (226)	103 Lr lawrencium (262)	104 Rf rutherfordium (267)	105 Db dubnium (268)	106 Sg seaborgium (271)	107 Bh bohrium (272)	108 Hs hassium (270)	109 Mt meitnerium (276)	110 Ds darmstadtium (281)	111 Rg roentgenium (280)	112 Cn copernicium (285)	113 Nh nihonium (284)	114 Fl flerovium (289)	115 Mc moscovium (288)	116 Lv livermorium (293)	117 Ts tennessine (294)	118 Og oganesson (294)



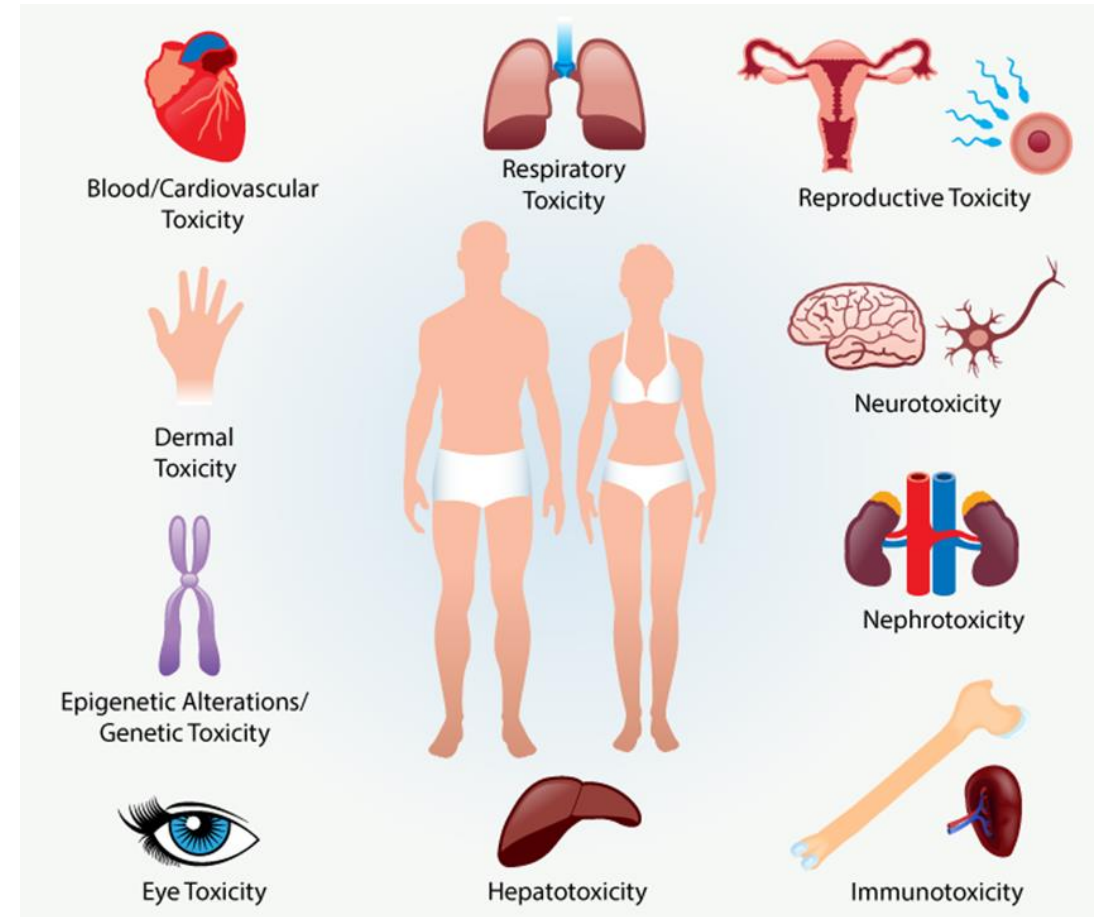
Lanthanides

57 La lanthanum 138.905	58 Ce cerium 140.116	59 Pr praseodymium 140.908	60 Nd neodymium 144.242	61 Pm promethium (145)	62 Sm samarium 150.36	63 Eu europium 151.964	64 Gd gadolinium 157.25	65 Tb terbium 158.925	66 Dy dysprosium 162.500	67 Ho holmium 164.930	68 Er erbium 167.259	69 Tm thulium 168.934	70 Yb ytterbium 173.04
89 Ac actinium (227)	90 Th thorium 232.038	91 Pa protactinium 231.036	92 U uranium 238.029	93 Np neptunium (237)	94 Pu plutonium (244)	95 Am americium (243)	96 Cm curium (247)	97 Bk berkelium (247)	98 Cf californium (251)	99 Es einsteinium (252)	100 Fm fermium (257)	101 Md mendelevium (258)	102 No nobelium (259)

Actinides

# Tossicodinamica

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

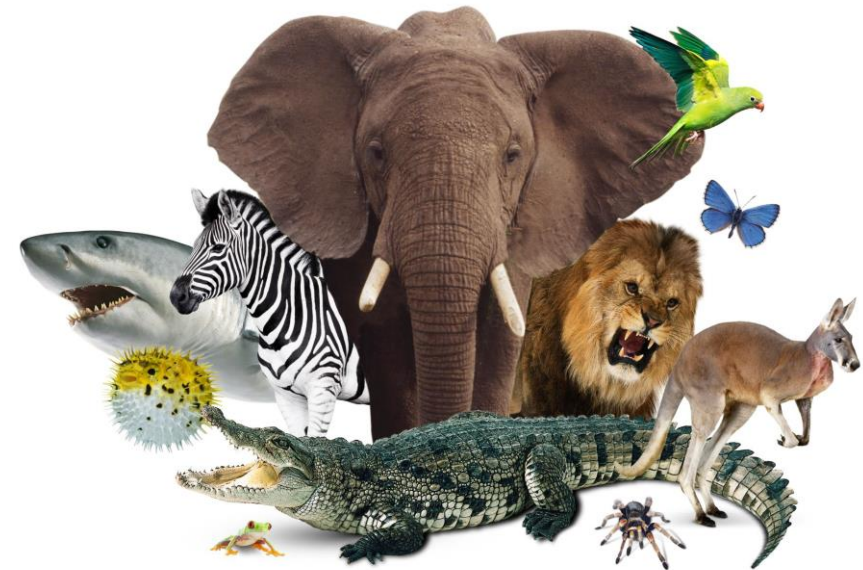
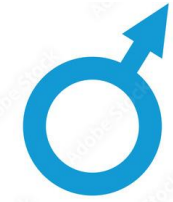




# Tossicodinamica: Fattori relativi all'individuo

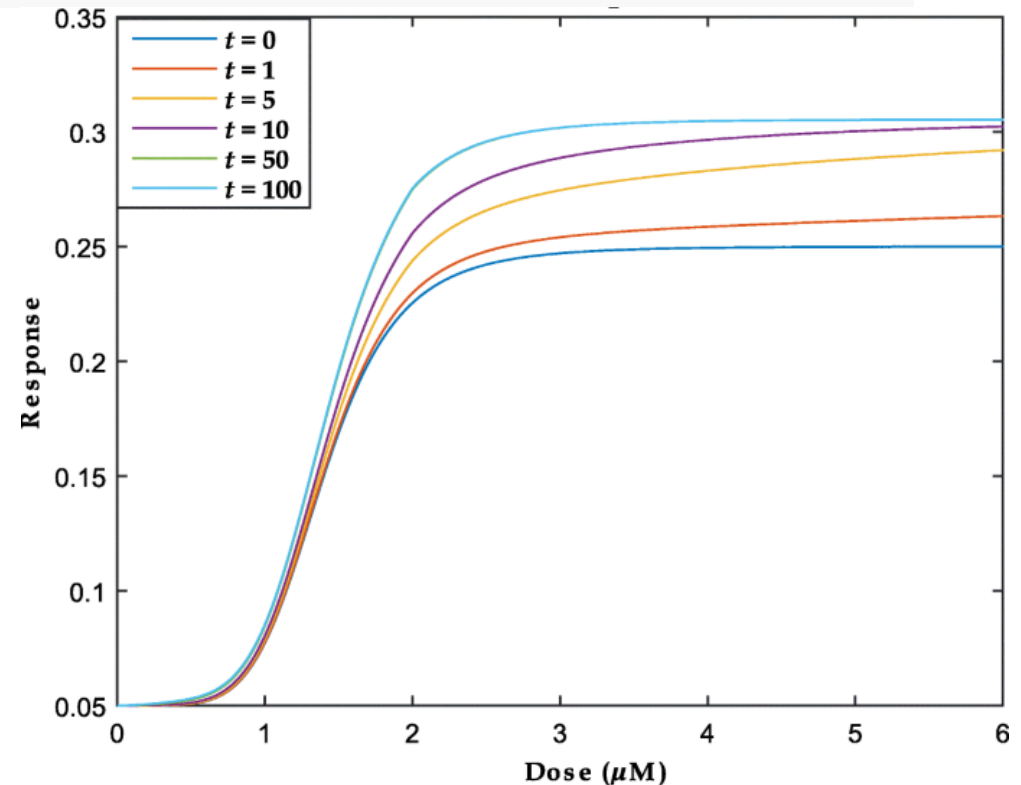
» La risposta tossicologica può essere influenzata da molti fattori relativi all'individuo:

- 1) I fattori genetici
- 2) La specie
- 3) Il sesso
- 4) L'età
- 5) Le condizioni patologiche
- 6) L'induzione/inibizione degli enzimi del CYP450



# Tossicodinamica: Fattore tempo

- » La risposta tossicologica 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.



In genere l'effetto di una sostanza potenzialmente tossica è proporzionale alla sua concentrazione nel sito o nei siti in cui sono presenti "Recettori" (Biofase). Anche **il tempo** di permanenza nella Biofase è correlabile all'effetto tossico. Dato che la concentrazione in un organo è in genere proporzionale alla concentrazione plasmatica, l'effetto tossico è proporzionale a quest'ultima (in genere misurabile).



Grazie per  
l'attenzione!



## **Referenze:**

*Casarett and Doull's*

Tossicologia: I fondamenti dell'azione delle sostanze tossiche - Ed. EMSI, 2010

**Principi di tossicologia** pagine 5-17

**Biocinetica dei composti tossici**  
pagine 57 – 61 e 71 – 96.