

Elementi di tossicologia degli Alimenti

“Lasciate che il cibo sia la vostra medicina e la vostra medicina sia il cibo”.(Ippocrate)

Introduzione alla tossicologia generale: Concetti di dose, concentrazione e relazione dose risposta. Tossicità acuta, subacuta, cronica; tossicità locale e sistemica; effetti tossici reversibili e irreversibili. **Tossicocinetica e Tossicodinamica:** principi generali e fattori che modificano la biodisponibilità di xenobiotici. Esposizione e principi di valutazione del rischio tossicologico di xenobiotici assunti con gli alimenti. Studi di tossicità in vitro ed in vivo; Fattori di sicurezza (NOEL, NOAEL, LOAEL, ADI, TDI).

Episodi di intossicazione acuta collettiva alimentare nell'uomo

| Luogo e anno | Sostanza | Effetti | n° morti o sogg. colpiti |
|-------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| Toyana (Giap) 1950 | Cadmio (riso) | Gravi lesioni ossee e renali | 200 (stima appross.) |
| Minamata (Giap) 1950 | CH ₃ Hg (pesce) | Gravi alterazioni neurologiche | 200 (stima appross.) |
| Turchia 1956 | HCB (grano) | Porfiria, alterazioni neuronali | 4000 |
| Irak 1981 | “Toxic oil” | Sintomatologia variabile | 340 |
| Spagna 1989 | Clembuterolo (fegato bovino) | Sintomi cardiaci e nervosi | 43 famiglie |
| Francia 1990 | Clembuterolo (fegato bovino) | Sintomi cardiaci e nervosi | 13 famiglie |

La tossicologia appartiene alle discipline mediche e studia la natura, la fonte, le dosi, i meccanismi d'azione, gli effetti delle sostanze chimiche potenzialmente in grado di determinare alterazione dello stato fisiologico.

Elementi di tossicologia degli alimenti

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

Filippo Aureolo Paracelso (1493-1541)

Sostanze tossica

Un tossico è una sostanza chimica che, una volta venuta a contatto con un sistema biologico ad una determinata dose, determina una alterazione dello stato fisiologico.

Intossicazione

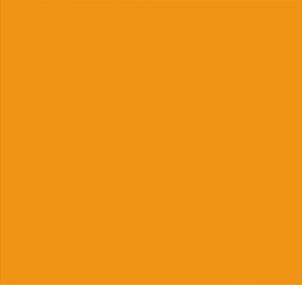
Per “intossicazione” s’intende una malattia acuta o cronica che si produce a seguito dell’esposizione dell’organismo ad una sostanza tossica. L’intossicazione è un fenomeno complesso ed è il risultato di processi che riguardano la sostanza, l’organismo e l’interazione tra sostanza ed organismo per la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

Alcuni concetti di tossicologia

- Tossicità acuta, subacuta, cronica subcronica
- Tossicità immediata e ritardata
- Tossicità locale e sistemica
- Effetti tossici reversibili ed irreversibili

Intossicazione

L'elemento che caratterizza 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 .


$$\mathbf{ET}_s(\mathbf{i}/\mathbf{r}) = \mathbf{C}_s(\mathbf{b})_{(t)} * \mathbf{R}_{(n)} * \mathbf{AF}_{(sr)}$$

$$ET_s (\mathbf{i/r}) = C_s (\mathbf{b})_{(t)} * R_{(n)} * AF_{(sr)}$$

ET = Effetto Tossico

S = sostanza (chimica)

t = tempo

C = concentrazione

b = biofase

R = numero recettori

AF = Affinità S vs R (forza/tipo di legame/Costante di dissociazione, ecc.)

$$ET_s (i/r) = C_s (b)_{(t)} * R_{(n)} * AF_{(sr)}$$

Tossicocinetica

Tossicodinamica

Soggetto/individuo/popolazione

$$ET_s (\mathbf{i/r}) = C_s (\mathbf{b})_{(t)} * R_{(n)} * AF_{(sr)}$$

ET = Effetto Tossico

S = sostanza (chimica)

t = tempo

C = concentrazione

b = biofase

R = numero recettori

AF = Affinità S vs R (forza/tipo di legame/Costante di dissociazione, ecc.)

Fattori che influenzano la risposta tossicologica

- A) Fattori relativi alla sostanza** (dose, caratteristiche molecolari, meccanismo d'azione)
- B) Fattori relativi al soggetto** (tossicocinetica, variazioni individuali nella sensibilità al tossico)
- C) Fattori relativi al tempo** di contatto con la sostanza tossica che 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

Unità di misura

- Dose
- Concentrazioni

DL₅₀ **(Dose letale 50 o Dose letale media)**

**è definita come quella dose CHE SOMMINISTRATA IN
UNA DETERMINATA SPECIE PER UNA DETERMINATA VIA
E' IN GRADO DI DETERMINARE LA MORTE DEL 50%
DEGLI ANIMALI TRATTATI**

Efficacia, Tossicità, Letalità

ED50 – Dose Efficace 50; la dose a cui il 50% della popolazione o del campione manifesta un determinato effetto; usato con curve dose risposta quantali

TD50 - 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 che porta a morte il 50% dei soggetti

Tossicità immediata o acuta

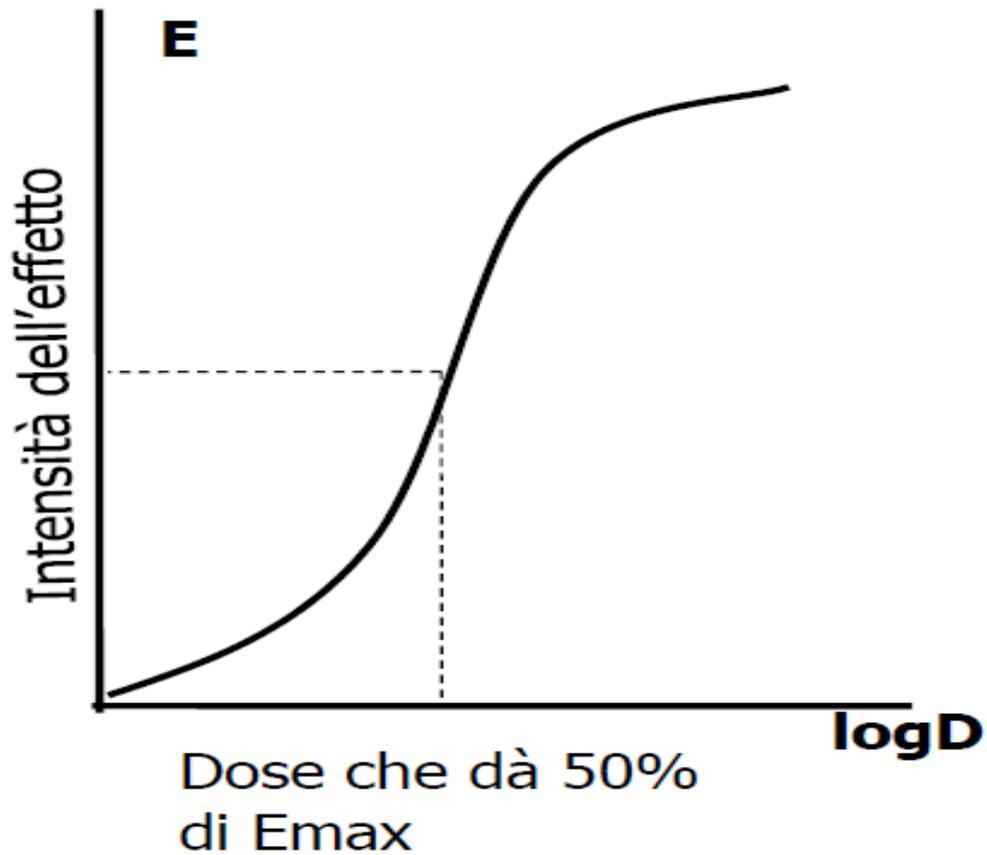
RELAZIONE DOSE - RISPOSTA

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



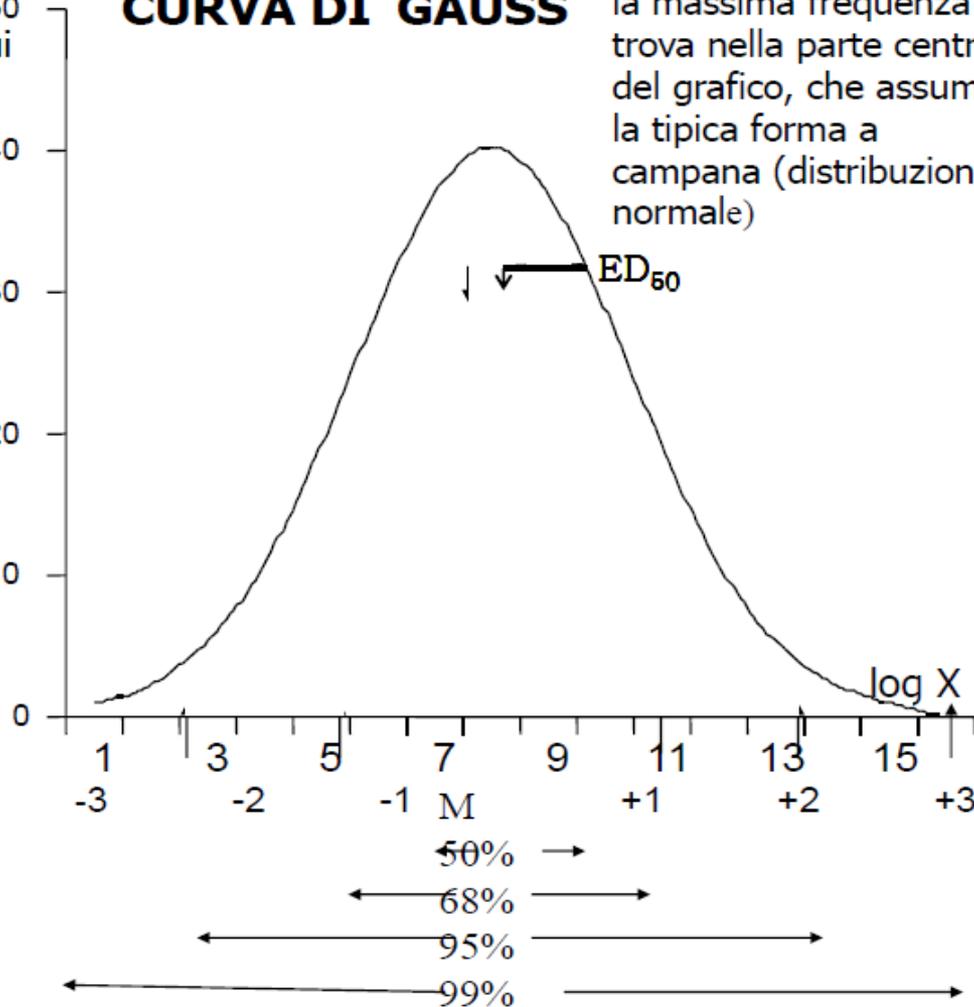
CURVA DI GAUSS

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

% di
individui

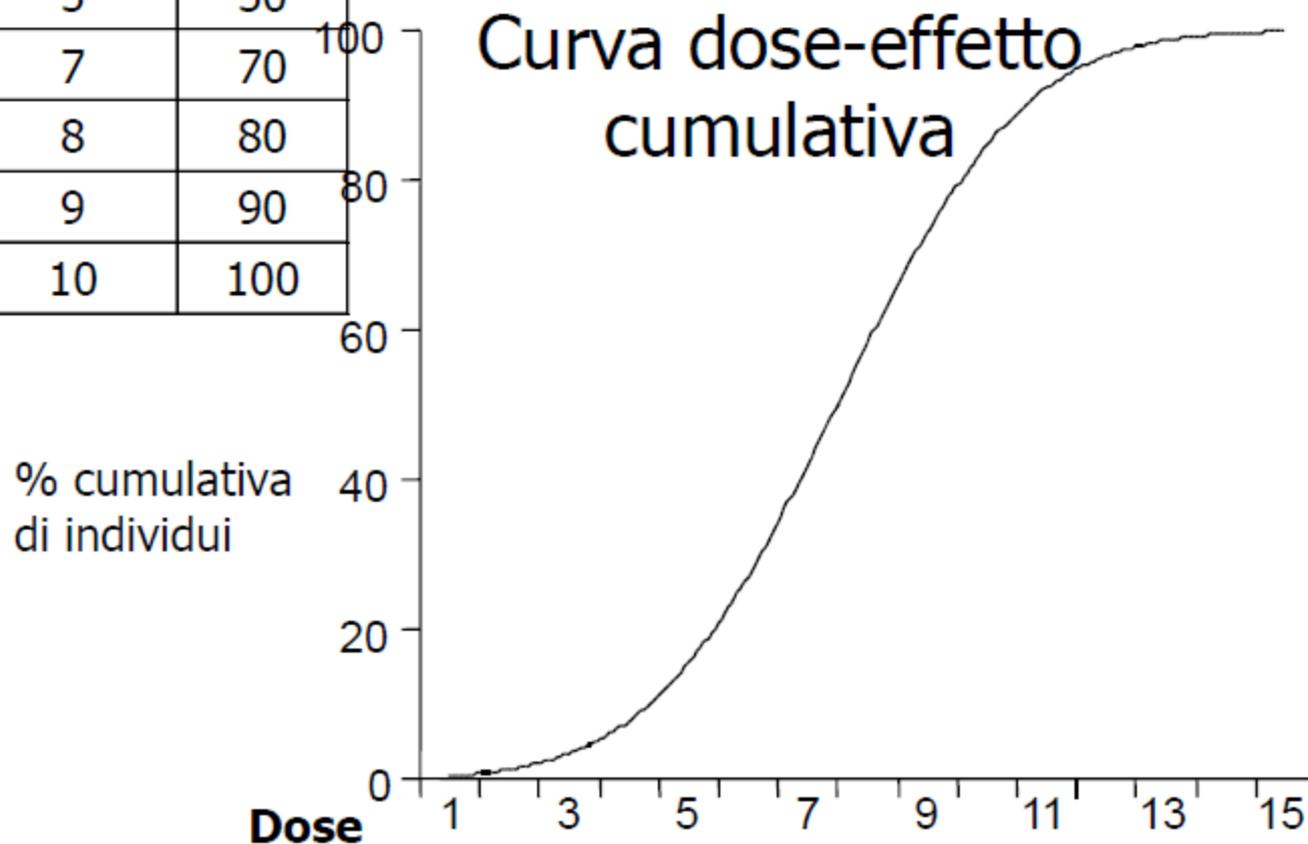
• Relazione dose-effetto in una popolazione di individui con un *endpoint* tutto-o-nulla o quantale. Aumentando progressivamente la dose in ciascun individuo della popolazione, viene identificata la dose minima efficace, che in quel soggetto determina la risposta tutto-o-nulla (dose soglia).

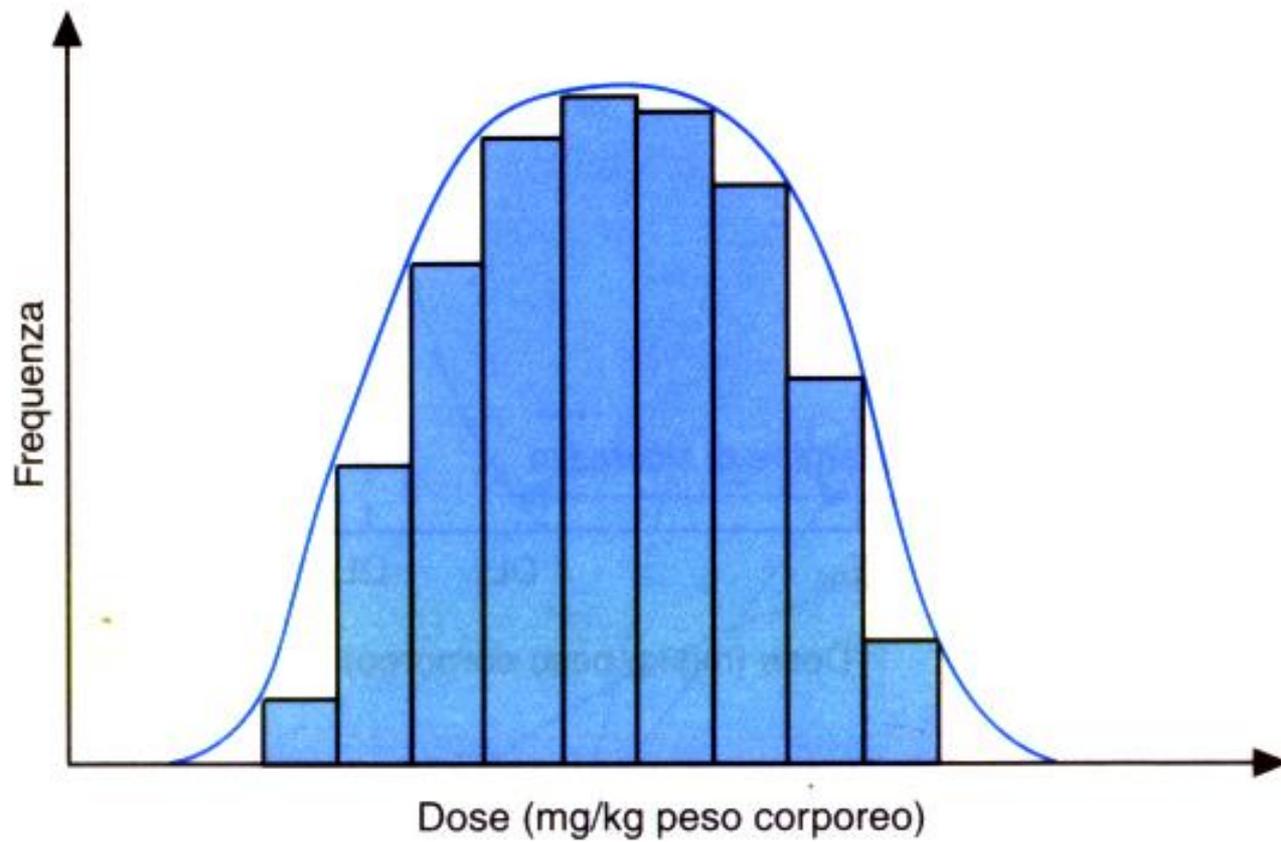
• Nel grafico si osserva la **distribuzione** della frequenza delle dosi soglia nella popolazione esaminata.



| 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 |

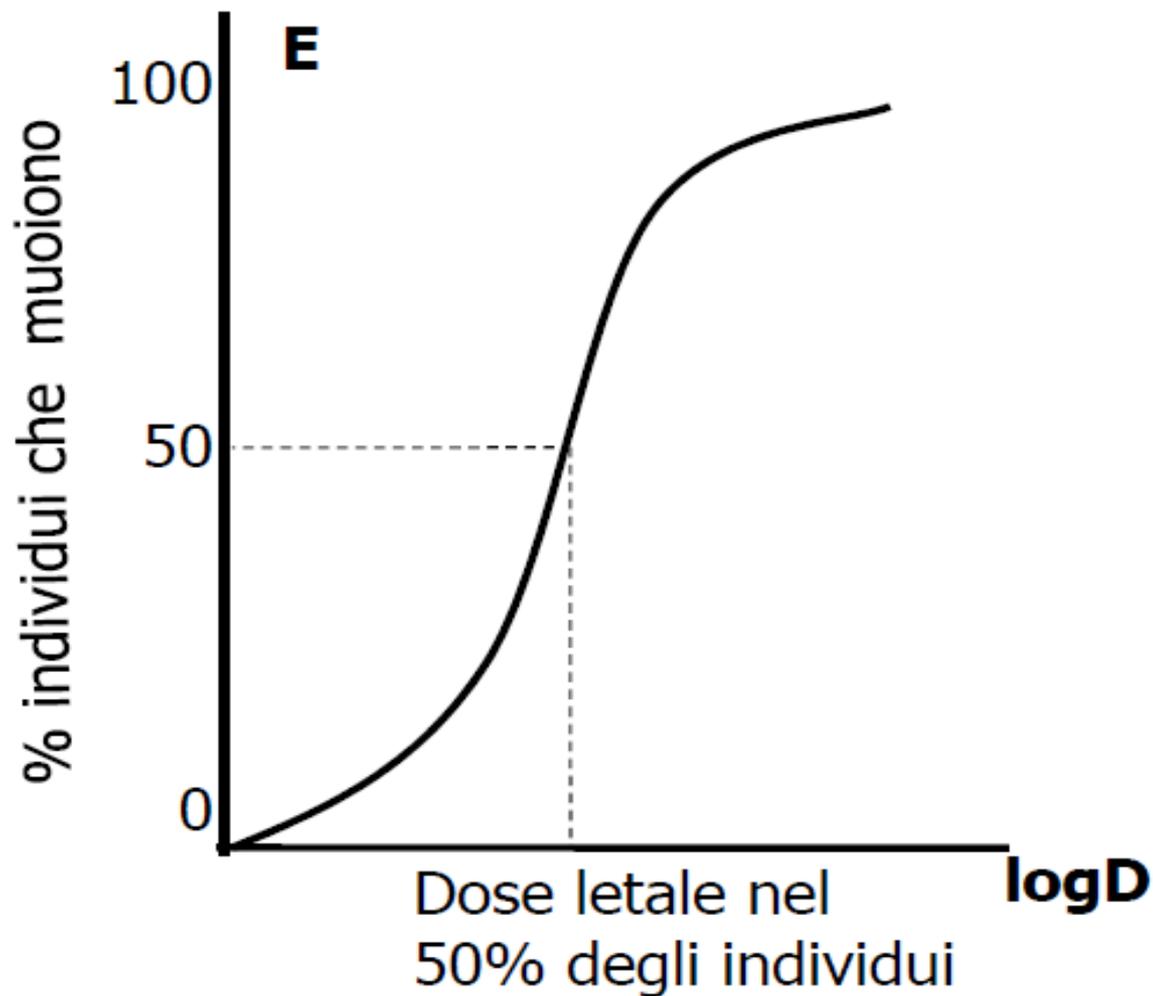
- Un modo più conveniente di esprimere la relazione quantale dose-effetto è quello di mettere in grafico la dose vs. la percentuale cumulativa dei soggetti che rispondono ad una data dose. La distribuzione normale è così trasformata in una curva **sigmoide**.



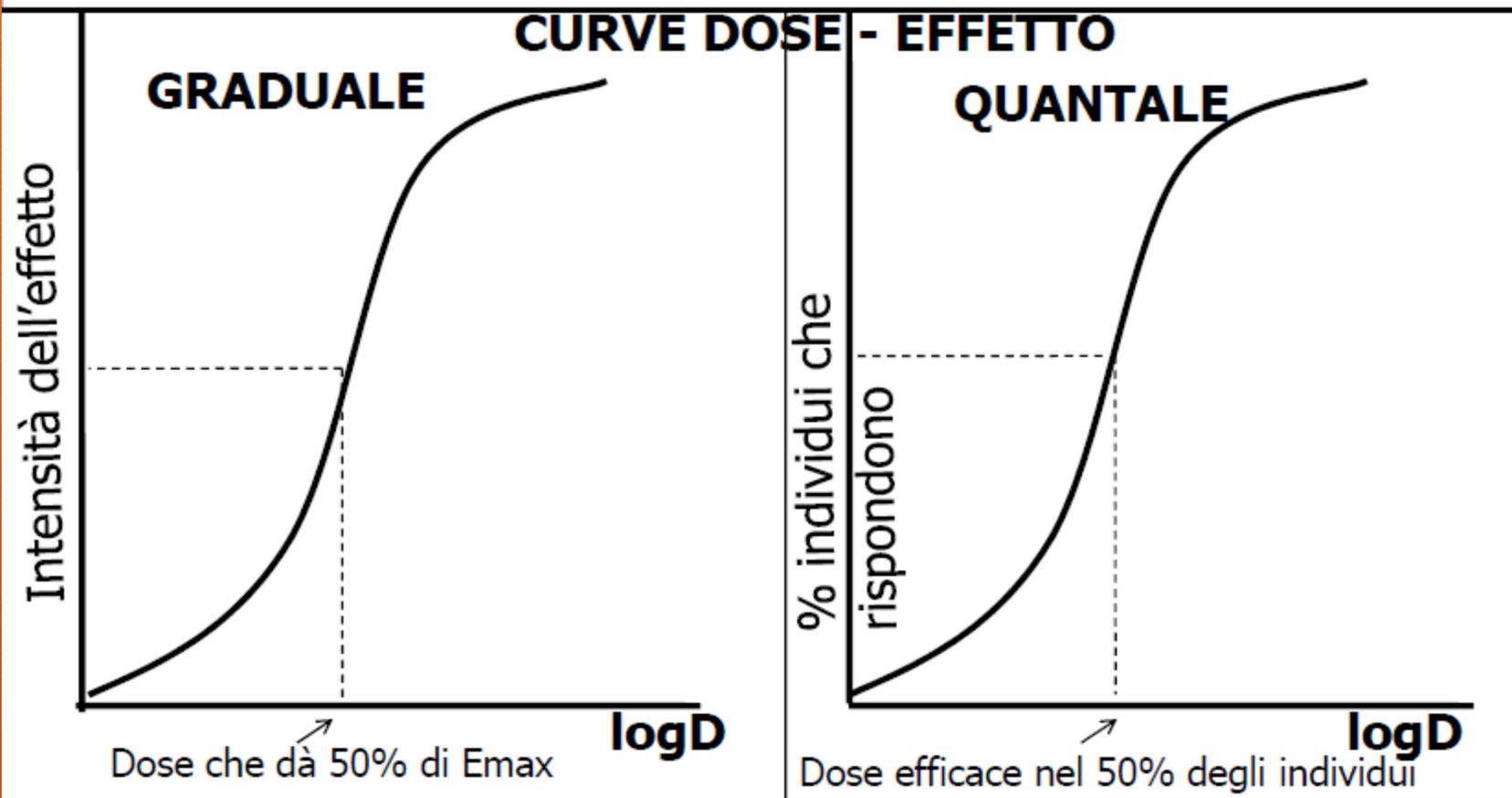


CURVA QUANTALE

Indice di letalità DL50



- 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.



Classificazione delle sostanze in categorie correlate alla loro tossicità

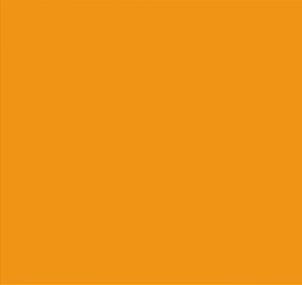
| Indice di tossicità | Terminologia di uso corrente in uomo di 70 kg | Probabile dose letale |
|---------------------|-----------------------------------------------|-----------------------|
| 6 | supertossiche | <5mg/kg |
| 5 | altamente tossiche | 5-50 mg/kg |
| 4 | molto tossiche | 50-500 mg/kg |
| 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 | DL ₅₀ (mg/kg) |
|----------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| Leggermente tossico (5-15 g/kg) | Etanolo | 8.000 |
| Moderatamente tossico (0,5-5 g/kg) | Cloruro di sodio | 4.000 |
| | Solfato ferroso | 1.500 |
| | Malathion | 1.300 |
| | Metanolo | 1.000 |
| 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) | 0.001 |
| | Tossina botulinica | 0.00001 |




$$\mathbf{ET}_s(\mathbf{i}/\mathbf{r}) = \mathbf{C}_s(\mathbf{b})_{(t)} * \mathbf{R}_{(n)} * \mathbf{AF}_{(sr)}$$

2) La struttura molecolare

La struttura molecolare e le caratteristiche chimico-fisiche condizionano la **tossicocinetica** e la **tossicodinamica**

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

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

TOSSICOCINETICA

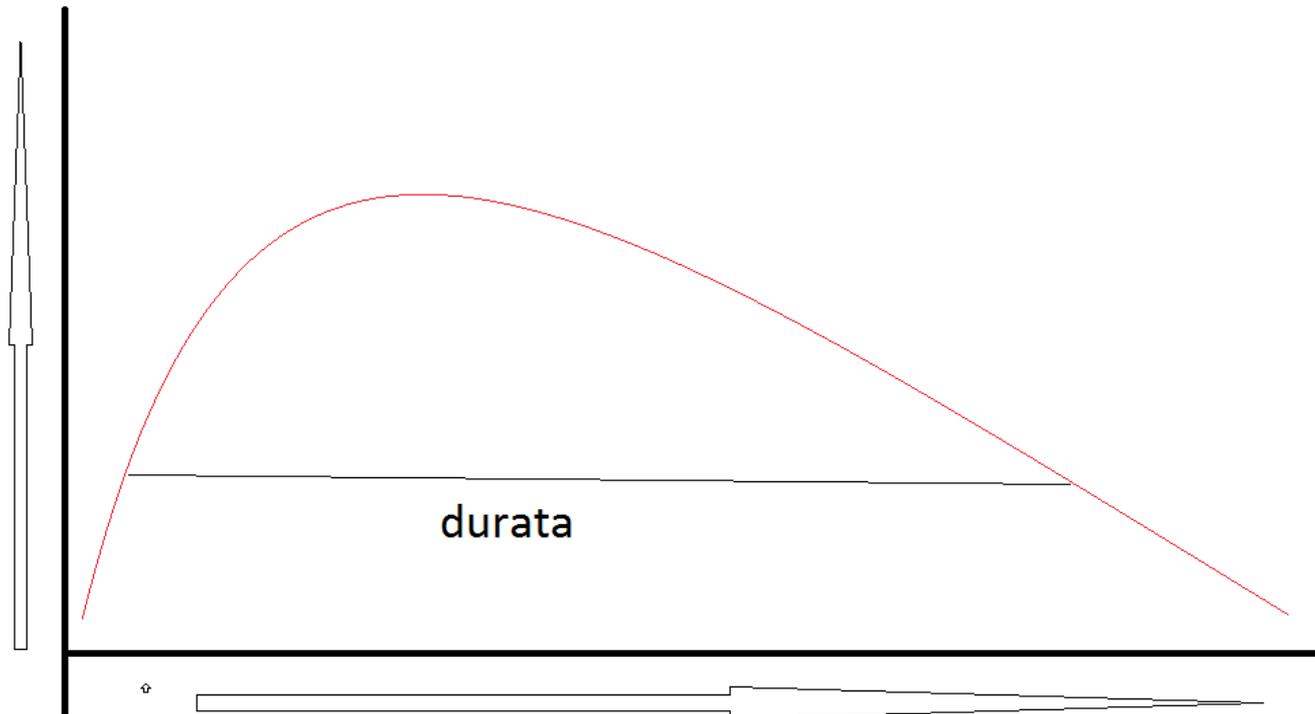
- Descrive i processi di **assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione (ADME)** delle sostanze potenzialmente tossiche.
- L'assorbimento è il processo tramite cui la sostanza penetra nell' organismo dal sito di esposizione (via orale) al sangue (circolazione sistemica).
- La distribuzione è il processo di passaggio dal sangue ai vari organi e tessuti.

Relazione tra concentrazione tempo ed effetto

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**).
- Per quasi tutti i tossici esiste una concentrazione minima (misurabile), al di sotto della quale non si ha effetto (**osservabile**).

Il fattore tempo



- 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 loro 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 la sostanza è stata eliminata; 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 la sostanza è stata eliminata.

Diffusione degli xenobiotici nell'organismo:

diffusione passiva

- Il movimento degli **xenobiotici** nei fluidi biologici e attraverso le membrane biologiche avviene **principalmente** per diffusione (passiva).
- Il passaggio attraverso le membrane è il passaggio limitante la velocità di diffusione globale. La diffusione avviene secondo la **legge di Fick**:
 - Flusso molare (moli/sec) = $(c_1 - c_2) \times D \times A/d$
 - $c_1 - c_2$ = gradiente di concentrazione (moli/l)
 - D = coefficiente di diffusione (cm^2/sec)
 - A = area (della membrana) (cm^2)
 - d = spessore (della membrana) (cm)

Lipofilia

- Le membrane biologiche sono composte principalmente da lipidi. Esse sono attraversate tanto più velocemente tanto più elevato è il coefficiente di ripartizione lipidi/acqua, ovvero tanto più elevata è la **lipofilia**.
- Il coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua o olio di oliva/acqua permette di attribuire alle molecole un valore di lipofilia o idrofilia.
- Il valore viene espresso come log in base 10 ovvero $\log P_{OW}$

Rapporto idrofilia/lipofilia

- Molecole ‘poco lipofile o idrofile’ (con coefficiente di ripartizione ‘molto’ basso) hanno una capacità ‘trascurabile’ di attraversare le membrane. Questi composti possono essere ‘altamente’ idrofili (es. sali, polioli) oppure essere insolubili sia nei lipidi che in soluzioni acquose (ad es. molti **peptidi e proteine**).
- Per molecole estremamente lipofile il fattore limitante è la solubilità nelle soluzioni acquose; queste molecole possono accumularsi nello strato lipidico delle membrane.
- In definitiva, la maggiore velocità di passaggio attraverso le membrane si ha con molecole lipofile ma con un certo grado di idrofilia (es. paracetamolo).

DISTRIBUZIONE

- La distribuzione è quel processo che permette alla sostanza una volta assorbita di distribuirsi e raggiungere i vari distretti dell'organismo in concentrazioni e in tempi diversi. La diversa distribuzione di un composto in un organismo dipende dalla natura chimico-fisica del composto e dalle caratteristiche dell'organismo in cui la sostanza è stata assorbita

Fattori che condizionano la distribuzione

- peso molecolare
- caratteristiche chimico-fisiche della sostanza
- legame alle proteine plasmatiche
- perfusione tissutale
- composizione dei tessuti
- presenza di barriere
- condizioni del soggetto

Perfusione tissutale

- **Alta**
 - polmoni
 - reni
 - fegato
 - cuore
 - cervello
- **Media**
 - cute
 - muscolo (a riposo)
- **Minima**
 - adipe
 - connettivo

Legame alle proteine (reversibile)

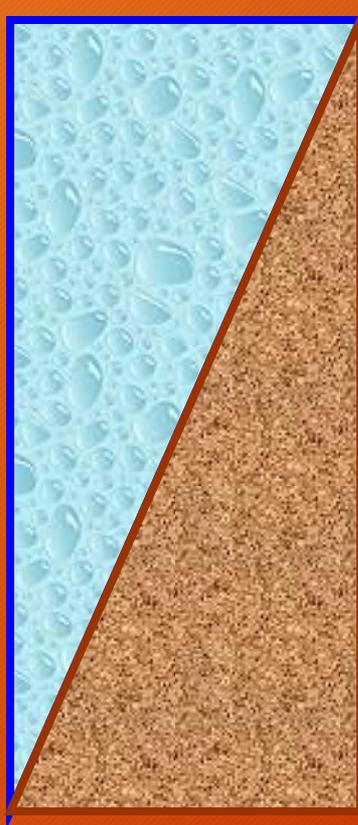
- Albumina Composti debolmente acidi
- Globuline Composti debolmente basici
- Transcortina Corticosteroidi, tiroxina, vit. B₁₂
- Lipoproteine Steroidi, vit. A e D, ciclosporina, chinidina, alcuni pesticidi

Sostanze altamente liposolubili sono presenti in concentrazioni maggiori in tessuti meno irrorati ma a maggiore capacità ritentiva (SITI di ACCUMULO)

- **Cheratina** (griseofulvina, arsenico)
- **Fegato** (metalli pesanti, vit. B₁₂)
- **Rene** (metalli pesanti, aminoglicosidi)
- **Adipe** (steroidi, pesticidi)
- **Tessuto osseo** (bifosfonati, piombo, stronzio)

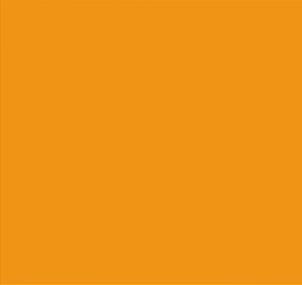
Composizione dei tessuti

Acqua



Grasso

Neonato
Bambino
Adolescente
Adulto
Anziano
Anziano-anziano


$$\mathbf{ET}_s(\mathbf{i}/\mathbf{r}) = \mathbf{C}_s(\mathbf{b})_{(t)} * \mathbf{R}_{(n)} * \mathbf{AF}_{(sr)}$$

XENOBIOTI

- **Composti estranei all'organismo** assorbiti attraverso la pelle, i polmoni o **introdotti con l'alimentazione;**
- **Prodotti chimici sintetizzati e impiegati nelle varie attività antropiche (agricoltura, allevamento, industria terziario ecc.)**
- **Prodotti chimici secondari prodotti o da eventi naturali o artificiali.**
- **Prodotti normalmente presenti in natura ma potenzialmente pericolosi se superano concentrazioni pericolose.**
- **Sostanze chimiche di origine naturale con spiccata attività tossica.**

Il metabolismo

- 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.

Perché vengono metabolizzati?

- La trasformazione fa sì che i metaboliti siano idrosolubili.
- Gli enzimi metabolizzanti sono in genere poco specifici (riconoscono più substrati caratterizzati da domini strutturali comuni).
- Questi enzimi di conseguenza metabolizzano sia xenobioti e sia 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.

Principali reazioni metaboliche

Principio attivo

Reazioni di fase I
OSSIDAZIONE
RIDUZIONE
IDROLISI

Metaboliti di fase I

-OH
-COOH
-NH₂
-SH

Reazioni di fase II
CONIUGAZIONE

Metaboliti coniugati

ELIMINAZIONE

ELIMINAZIONE

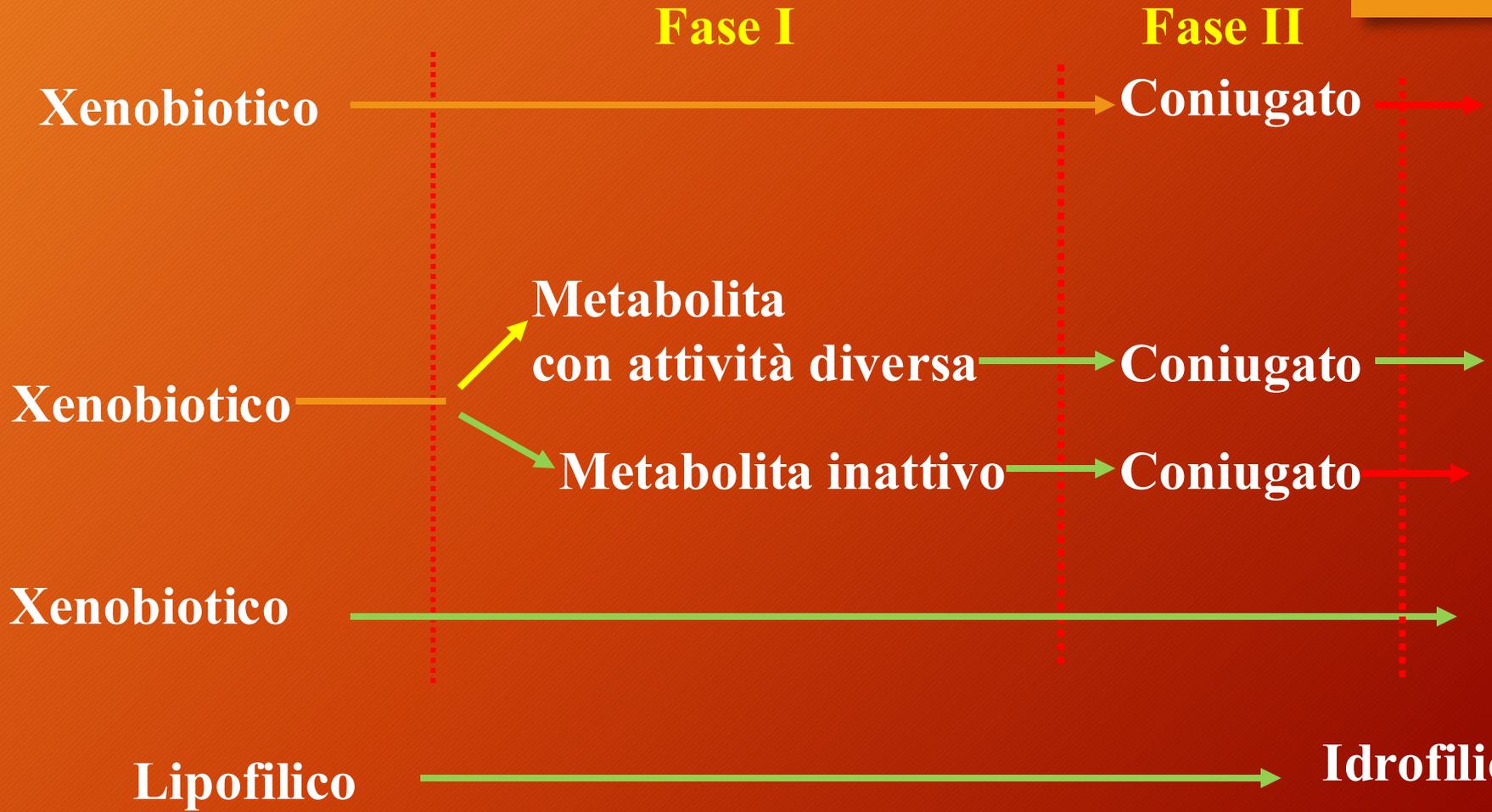


BIOTRASFORMAZIONE degli XENOBIOTICI

ASSORBIMENTO

METABOLISMO

E
L
I
M
I
N
A
Z
I
O
N
E



Reazioni di fase I o di funzionalizzazione

- Ad es. reazioni di idrolisi, riduzione, **ossidazione**.
- Portano in genere all'introduzione o smascheramento di un gruppo nucleofilo (-OH, -NH₂, -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.
- Le reazioni di fase I determinano **in genere** perdita dell'attività tossica (modificazione della struttura chimica e della capacità di interagire con il recettore). In alcuni casi, tuttavia, i prodotti delle reazioni di fase I sono bioattivi. Ad es. vengono chiamati pro-farmaci composti che sono attivati dalle reazioni di fase I.
- Nelle reazioni di fase I, soprattutto le reazioni di ossidazione, si possono formare metaboliti tossici.

Bioattivazione

Molti xenobiotici (dotati o meno di attività propria) sono trasformati in composti potenzialmente tossici dal metabolismo **bioattivazione**; es.: benzene, IPA, idrocarburi alogenati, aflatossine.

- I metaboliti tossici possono essere ulteriormente metabolizzati, con formazione di composti non tossici (detossificazione)

Il metabolismo

- Il metabolismo degli xenobiotici è estremamente importante in Tossicologia.
- Esso può avere sia un effetto protettivo (eliminazione e/o detossificazione dello xenobiotico) sia un effetto dannoso (formazione di metaboliti tossici).

Metabolizzazione e/o detossificazione

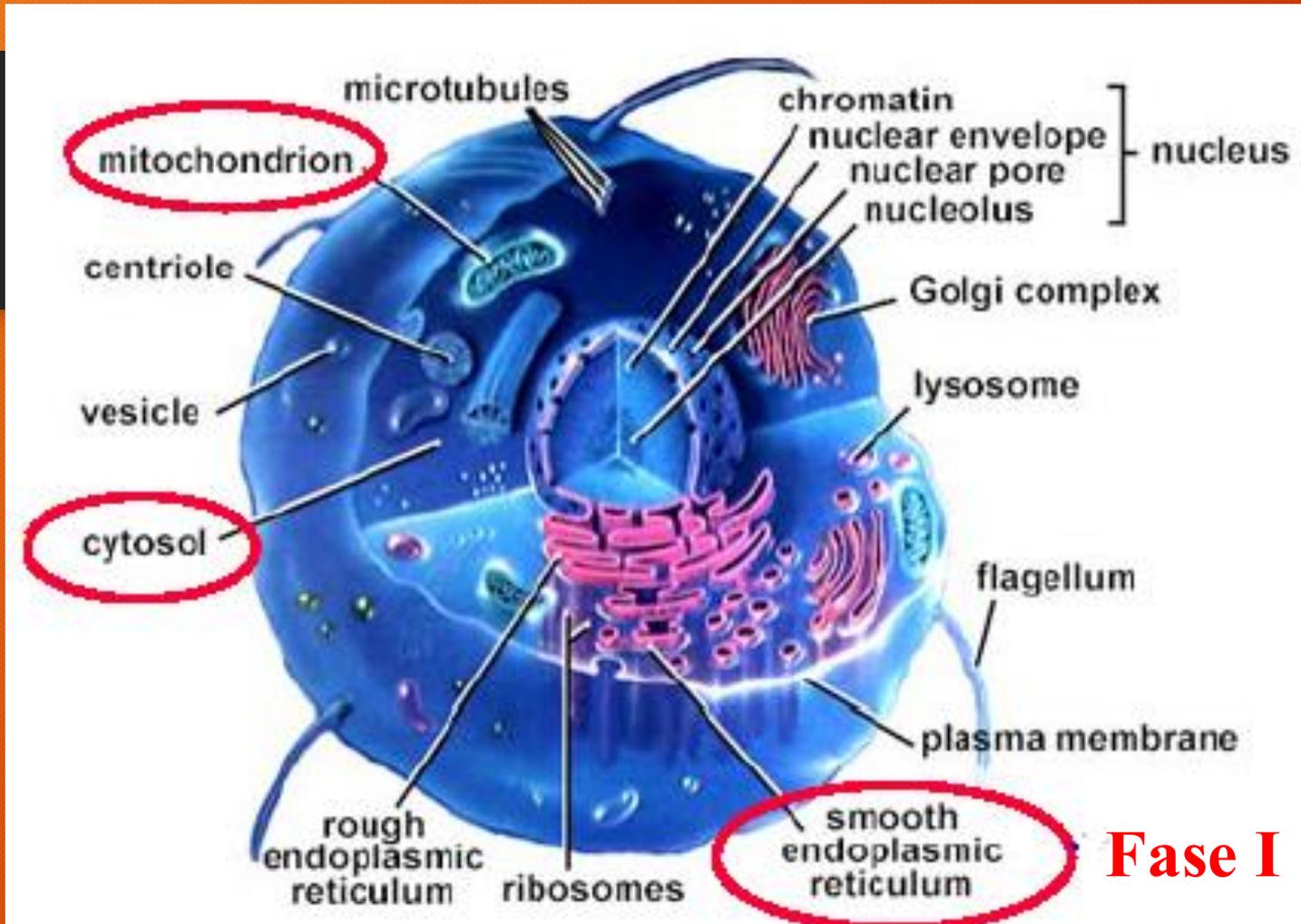
La detossificazione esprime il concetto di difesa endogena sia verso gli xenobiotici sia verso i farmaci (la stragrande maggioranza xenobioti)

Enzimi del metabolismo degli xenobiotici

| Tipi di reazioni | Enzima |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fase I Ossidazione | Citocromo P450 Alcol deidrogenasi Aldeide deidrogenasi Monossigenasi flaviniche Monoaminossidasi |
| Riduzione | Chinone reductasi (DT diaforasi) Citocromo P450 reductasi |
| Idrolisi | Epossido idrolasi |
| Fase II Coniugazione | UDP glucuronil transferasi Solfotransferasi N-acetil transferasi Metiltransferasi Coniugazione con amminoacidi Glutatione transferasi |

Fase I

Fase II



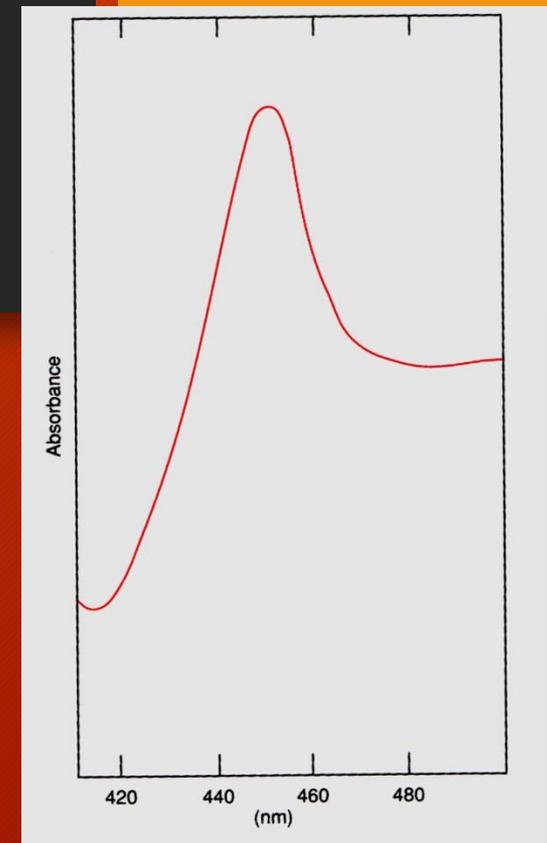
Gli enzimi della fase I predominano nel reticolo endoplasmatico liscio (microsomi), quelli della fase II nel citosol

SISTEMA CITOCROMO P450 MONOOSSIGENASI

- E' costituito da proteine di membrana, contenenti un gruppo **eme**, localizzate nel reticolo endoplasmatico liscio, prevalentemente a livello epatico. Producono una caratteristica banda di assorbimento spettrofotometrico a **450 nM**.



**Il Cyt P450
assorbe a 450 nm
quando il Ferro è
nello stato
ridotto (Fe²⁺)
e legato al CO
(monossido di
carbonio)**



SISTEMA CITOCROMO P450

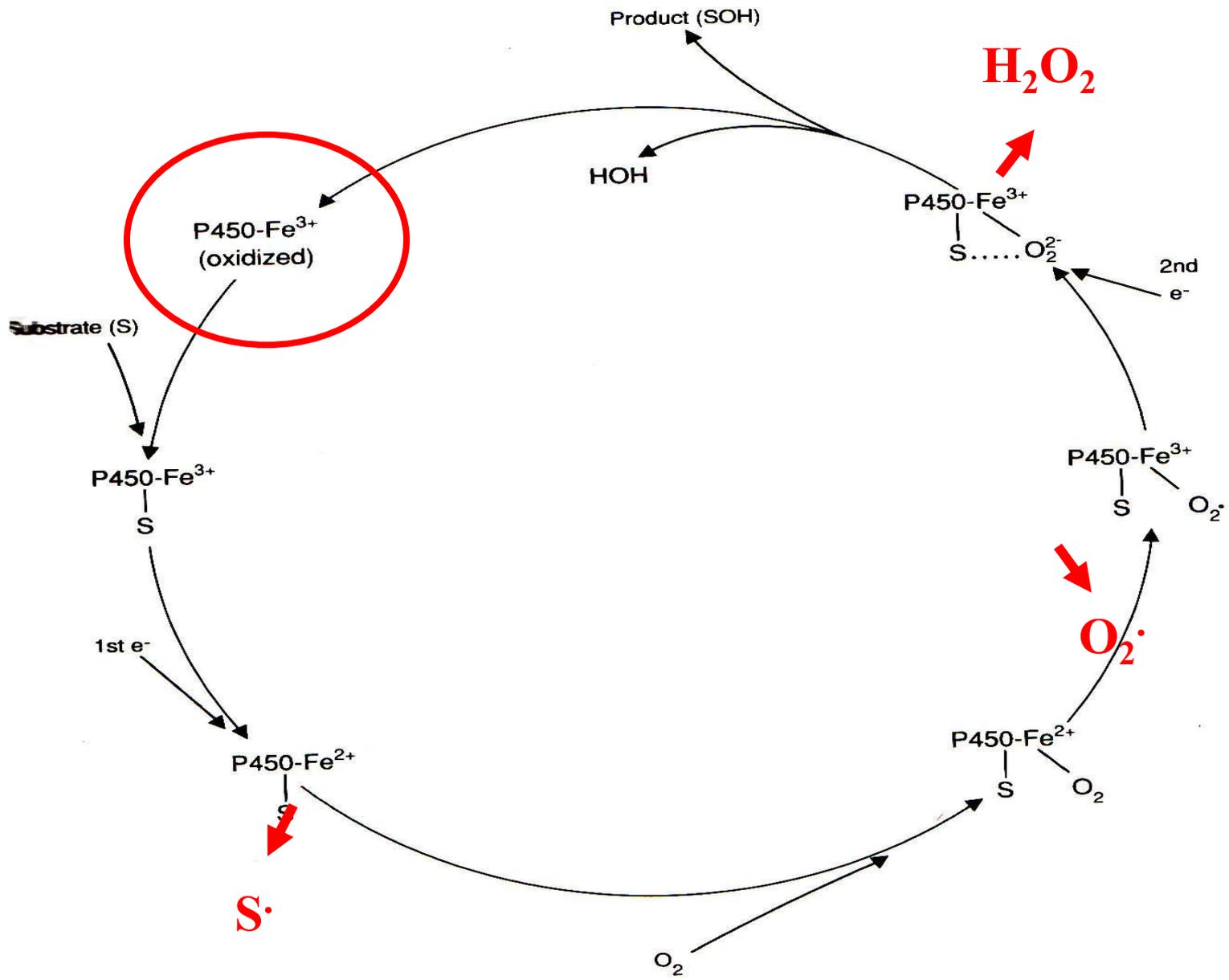
MONOOSSIGENASI

- La famiglia del gene P450 (CYP) si è differenziata (in miliardi di anni) garantendo il metabolismo di un numero sempre crescente di composti chimici ambientali, tossine alimentari, farmaci.
- La superfamiglia di enzimi che ne è derivata catalizza una varietà enorme di reazioni (ossidazione, riduzione) nei confronti di diversi substrati, differenti dal punto di vista chimico.
- A seconda della somiglianza nella catena di aminoacidi gli isoenzimi sono raggruppati in famiglie e subfamiglie. Attualmente nell'uomo conosciamo 18 famiglie di CYP450, con 42 sottofamiglie e 57 geni codificanti.

Nomenclatura dei citocromi P450, esempio: CYP2D6

- CYP = citocromo P450
- 2 = famiglia
- D = sub-famiglia
- 6 = specifico isoenzima (specifico gene)

La nomenclatura è basata sui geni e non ha implicazioni funzionali



SUBSTRATI DEL CITOCROMO P450

Xenobiotici

Farmaci, inclusi antibiotici
Carcinogeni
Antiossidanti
Solventi
Anestetici
Coloranti
Pesticidi
Derivanti del petrolio
Alcol
Odori

Composti di origine fisiologica

Colesterolo, Steroidi
Eicosanoidi (leucotrieni, prostaglandine)
Acidi grassi
Idroperossidi dei lipidi
Retinoidi (vitamina A)
Acetone

Xenobiotici metabolizzati dal citocromo P450

| <i>Reazione</i> | <i>Esempi</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ossidrilazione comp. alifatici Ossidrilazione comp. aromatici Formazione di epossidi Dealchilazioni ossidative Deaminazione ossidativa Ossidazione di N o S o P Rimozione di alogeni Ossidazione di alcoli | Acido valproico, pentobarbital Benzopirene, fenobarbital Benzene, benzopirene Fenacetina, morfina, caffeina Anfetamina Cloropromazina, paracetamolo Alotano Alcol etilico |
| Riduzione (bassa [O₂]) | Alotano, CCl₄ |

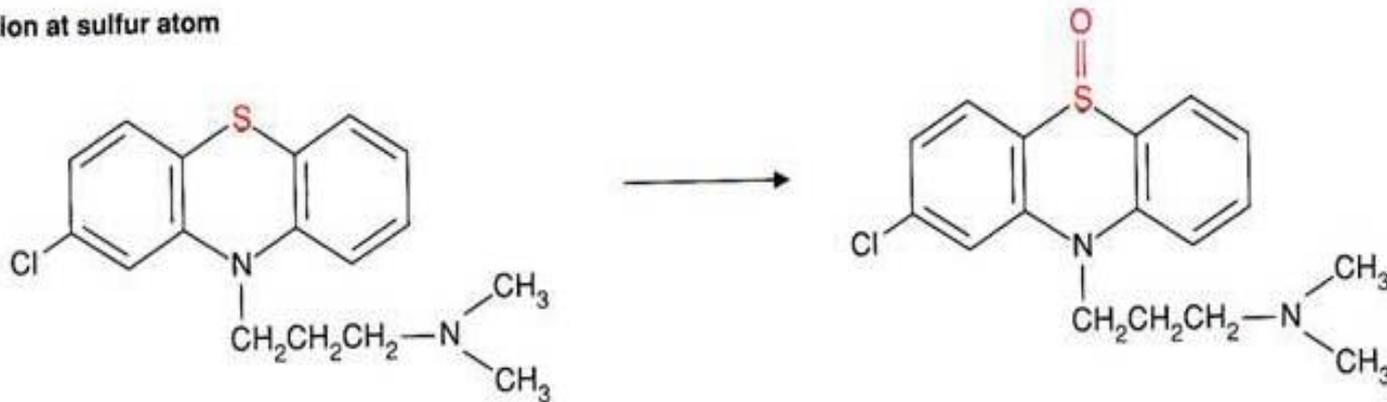
REAZIONI DI OSSIDAZIONE

Oxidation at nitrogen atom



2-Acetylaminofluorene

Oxidation at sulfur atom



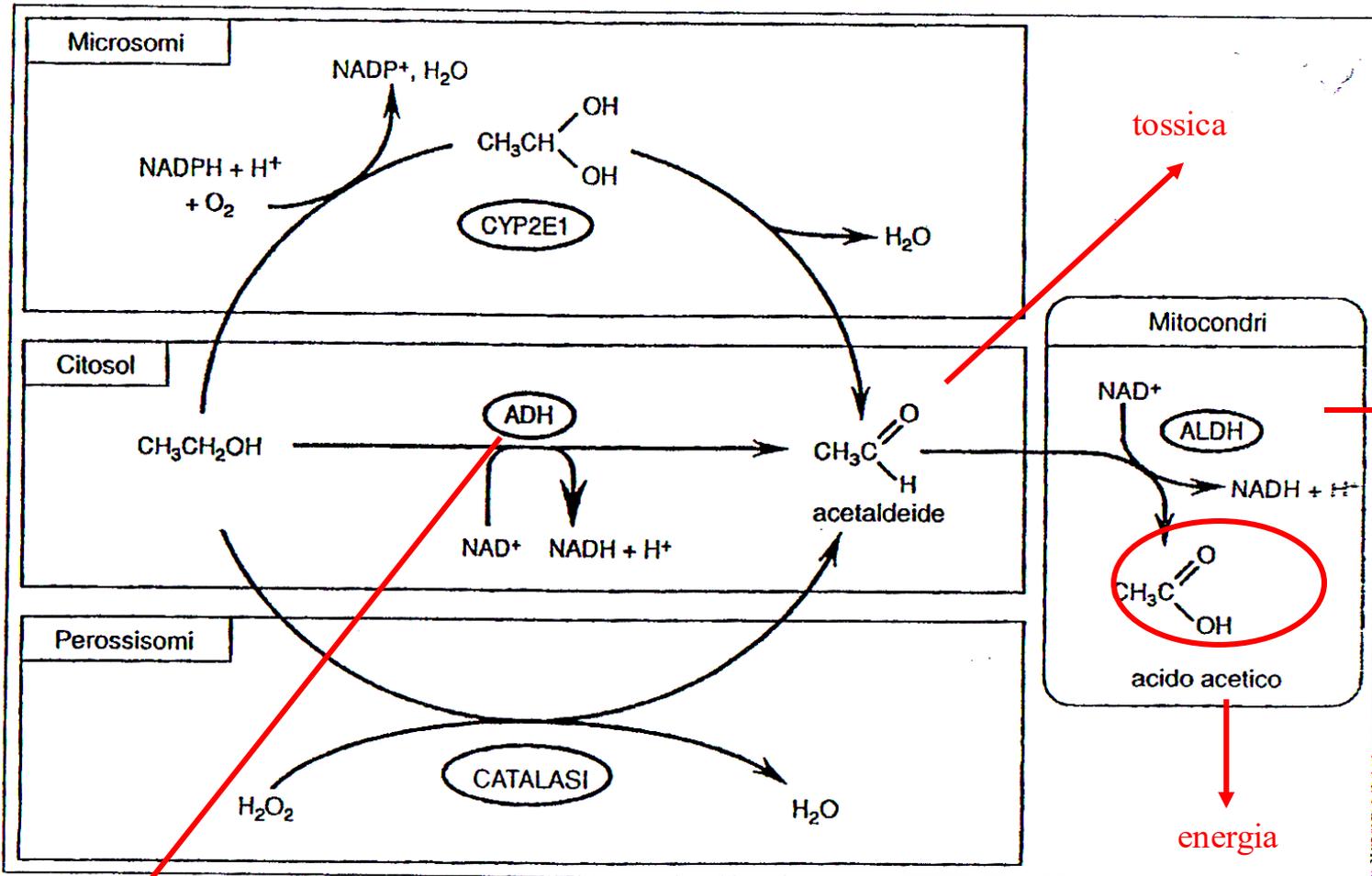
Chlorpromazine

Oxidation at phosphorus atom



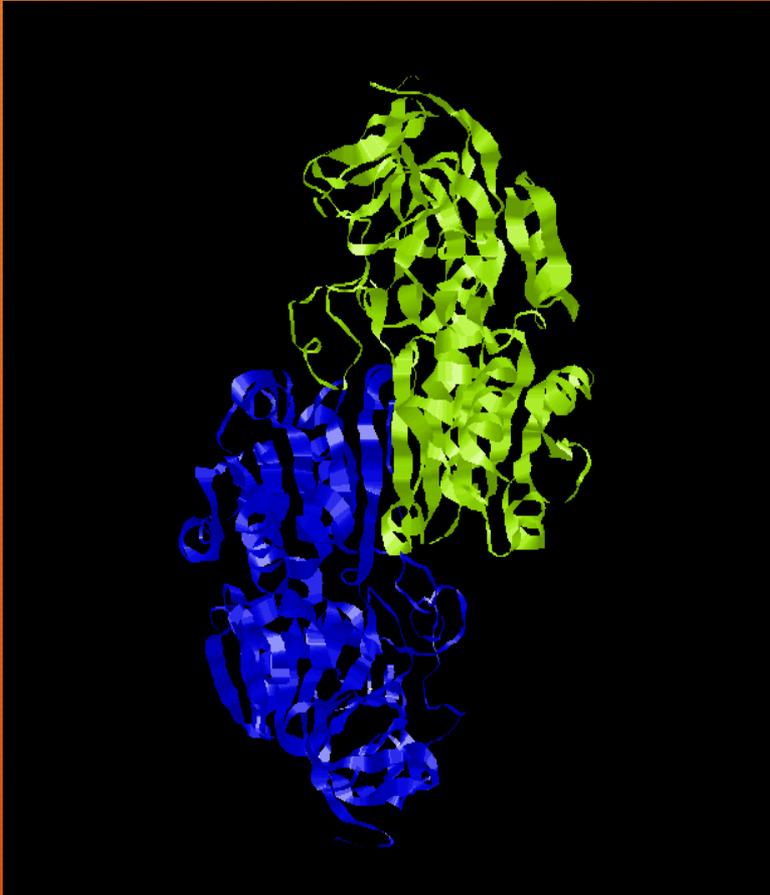
Parathion

Metabolismo dell'etanolo



Alcol deidrogenasi

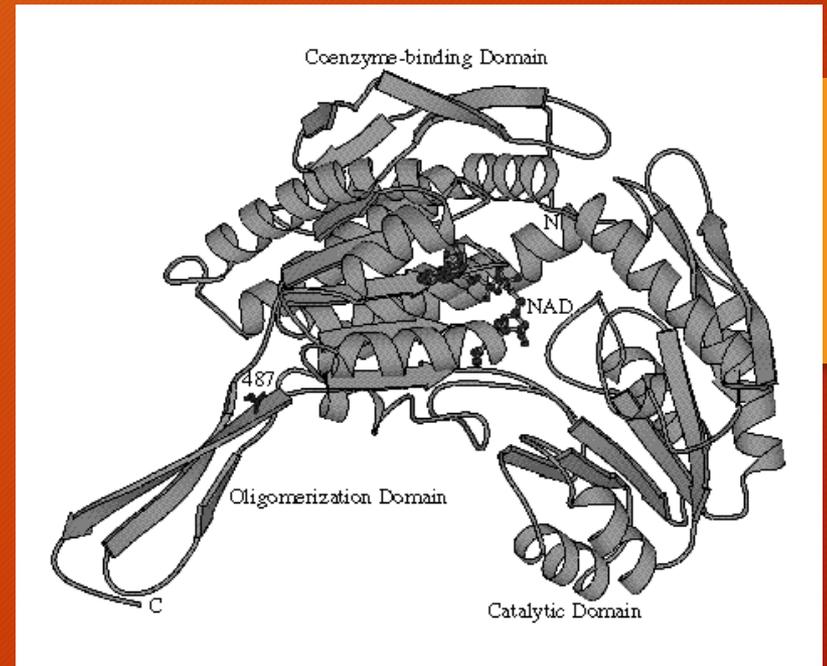
Aldeide deidrogenasi



Alcol deidrogenasi:
enzima dimerico,
citosolico, contenente Zn
5 geni (α , β , γ , π , κ). β ha 3
alleli, γ 2 alleli

Quindi 8 subunità diverse
che si combinano
a formare isoenzimi con
diversa efficienza
catalitica. La subunità β è
molto attiva.

**Gli isoenzimi presenti nelle popolazioni
asiatiche sono molto efficienti.**

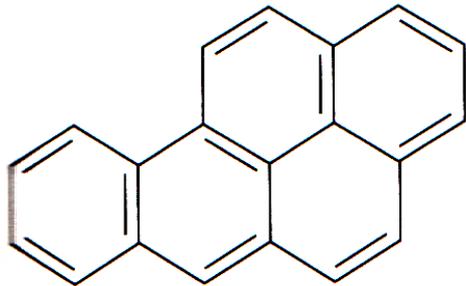


Aldeide deidrogenasi (16 geni, famiglia di proteine)

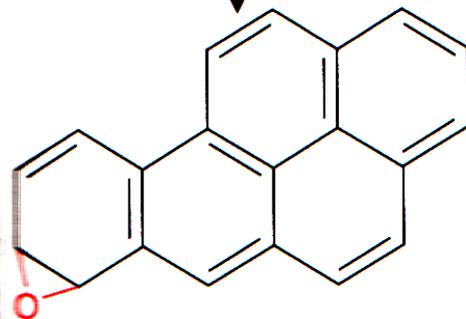
**Allele di classe 2: basso metabolismo delle aldeide,
fattore di rischio per il cancro indotto da alcol**

**Nelle popolazioni orientali: intolleranza all'alcol (vasodilatazione,
“flushing syndrome”).**

Benzo[a]pyrene

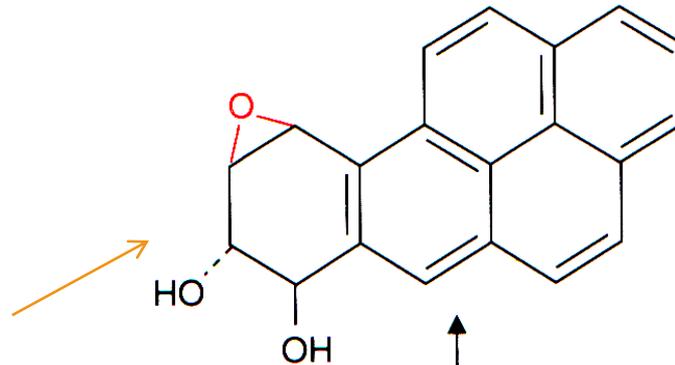


P450
 O_2

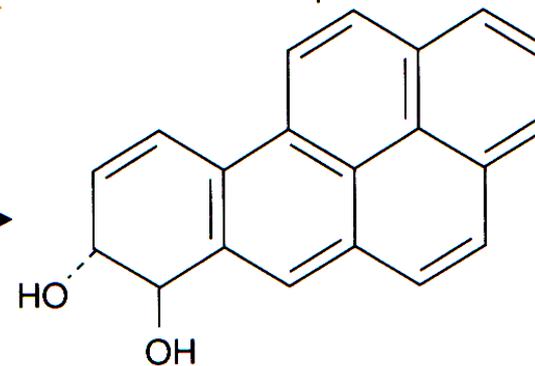


Benzo[a]pyrene-7,8-epoxide

Benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide



P450
 O_2



Benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol

epoxide
hydrolase

cancerogeno



Induttori del P450: appartengono a 5 classi, con diverso meccanismo d'azione

- 3-metilcolantrene, benzopirene, diossina, fumo,
alimenti cotti a carbone, crocifere → CYP1A1, CYP1A2
- Fenobarbital, DTT → CYP2B1, CYP2B2
- Isoniazide, etanolo → CYP2E1
- Steroidi, antibiotici → CYP3A1, CYP3A2
- Clofibrato, plastificanti → CYP4A1, CYP 4A2, CYP4A3

2) 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 piu' 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 glutathione ridotto (GSH) ha un ruolo di primaria importanza nella detossificazione

E' un tripeptide endogeno presente nel citoplasma e nei mitocondri (concentrazioni millimolari) composto da 3 AA:

1) acido glutammico

2) cisteina

3) glicina

G S H

Il glutathione ridotto (GSH) ha un ruolo di primaria importanza nella detossificazione

Il GSH intracellulare interviene nella neutralizzazione di composti di origine endogena ed esogena in reazioni catalizzate dalla GSH-S-transferasi coniugati corrispondenti

La GSH-S-transferasi catalizza la reazione del sulfidrilico nucleofilo del glutathione con il composto contenente un atomo di carbonio elettrofilo

La GSH-S-transferasi è ubiquitaria con massima attività nel fegato, rene, surrene, intestino e testicoli

Altri sistemi enzimatici che operano “sintesi protettive”:

- 1) la glicuronil transferasi che catalizza le reazioni di glucuronconiugazione legando l'acido glicuronico a gruppi funzionali di solito alcolici o carbossilici
- 2) la metil-transferasi che opera la metilazione
- 3) gli enzimi coniuganti la glicina, la glutammina e la taurina con la formazione di peptidi
- 4) le solfo e acetil transferasi: generano rispettivamente solfati e composti acetilati
- 5) la rodanasi: detossifica il cianuro catalizzando la sintesi di tiocianati a partire dal tiosolfato

c₂) Detossificazione dei radicali liberi

I sistemi enzimatici

Gli effetti biologici dei radicali liberi sono controllati da un vasto schieramento di meccanismi biologici di difesa di tipo enzimatico e non enzimatico

Le cellule eucariote hanno due distinte superossido-dismutasi (SOD):

- 1) una contenente zinco e rame situata nel citoplasma**
- 2) una contenente manganese situata nei mitocondri**

Questi enzimi neutralizzano l'anione superossido (O_2^-) operando la dismutazione di 2 molecole di superossido con la formazione di perossido di idrogeno e una molecola di ossigeno



Il perossido di idrogeno (H_2O_2) è successivamente detossificato, per intervento della catalasi e della glutazione perossidasi, ad H_2O

La definizione della tossicità di una sostanza risulta da una somma di informazioni che riguardano il suo profilo tossicologico integrato

Numerose sono le variabili capaci di modificare la reattività farmaco-tossicologica per cui valutare l'effetto tossico di una sostanza in un organismo partendo da dati sperimentali tossicologici può essere difficile e rischioso

Da qui deriva la necessità di estrapolare dai dati sperimentali il livello o il tipo di tossicità nell'uomo

Sui dati estrapolati, si basano le autorità sanitarie per fissare i limiti d' accettazione dell'esposizione ad un tossico nella popolazione

Capacità metaboliche in funzione della specie

| | |
|------------|----|
| • Topo | 66 |
| • Ratto | 40 |
| • Coniglio | 34 |
| • Gatto | 27 |
| • Quaglia | 25 |
| • Cane | 23 |
| • Ovino | 22 |
| • Suino | 15 |
| • Bovino | 12 |
| • Trota | 10 |

Grammi di fegato/kg p.c.

| | |
|------------|-----|
| • Ratto | 223 |
| • Cane | 212 |
| • Gatto | 209 |
| • Quaglia | 205 |
| • Topo | 200 |
| • Coniglio | 185 |
| • Trota | 174 |
| • Ovino | 128 |
| • Suino | 113 |
| • Bovino | 98 |

Proteine in mg/g di fegato

- **Topo** **801**
- **Coniglio** **565**
- **Ratto** **528**
- **Gatto** **449**
- **Cane** **184**
- **Ovino** **165**
- **Trota** **103**
- **Quaglia** **84**
- **Bovino** **72**
- **Suino** **58**

Citocromo P-450 nmoli/mg di proteina

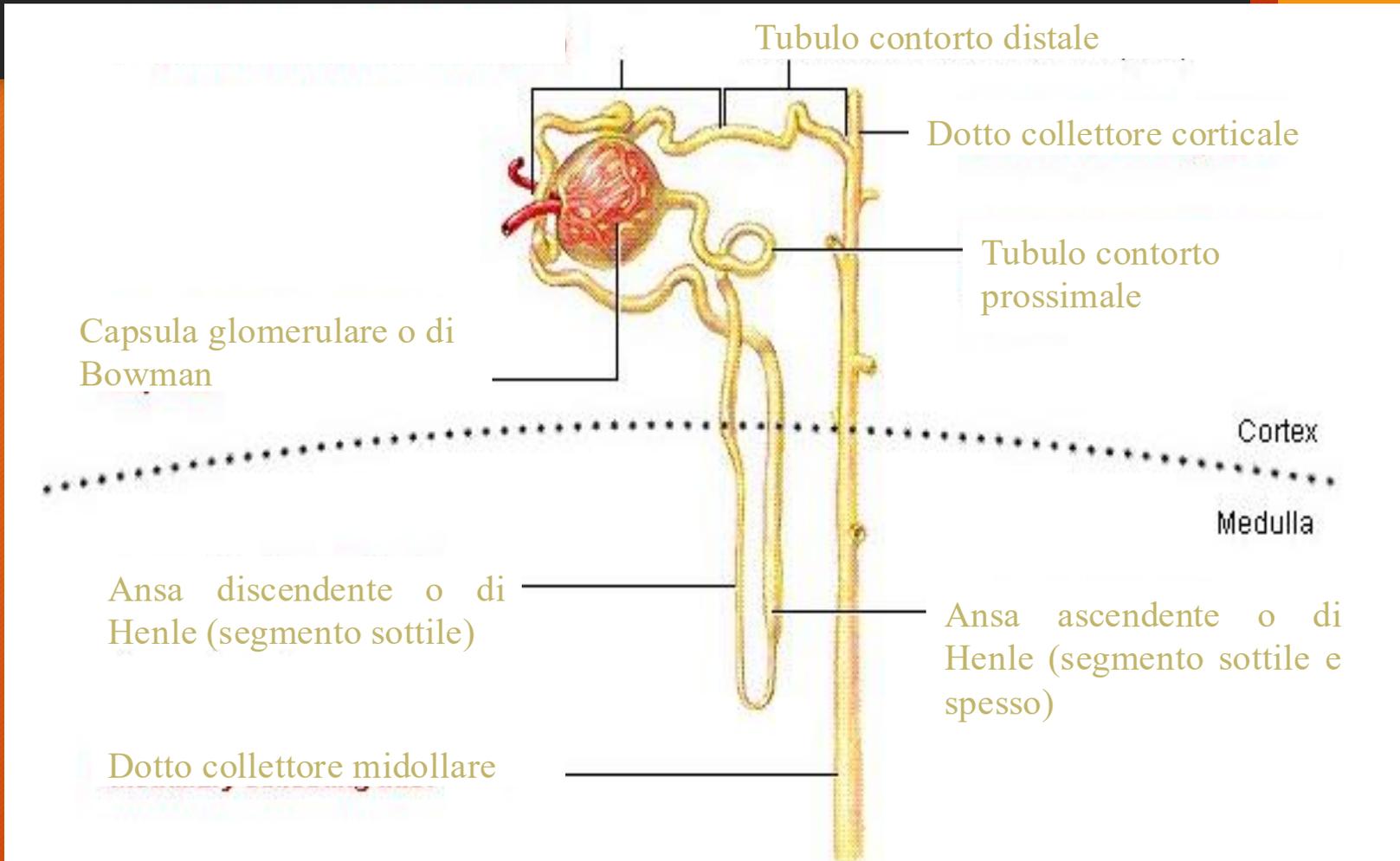
Citocromo P-450 $\mu\text{moli/kg p.c.}$

- **Topo** **10.537**
- **Ratto** **4.757**
- **Coniglio** **3.606**
- **Gatto** **2.533**
- **Cane** **905**
- **Ovino** **477**
- **Quaglia** **444**
- **Trota** **192**
- **Suino** **101**
- **Bovino** **88**



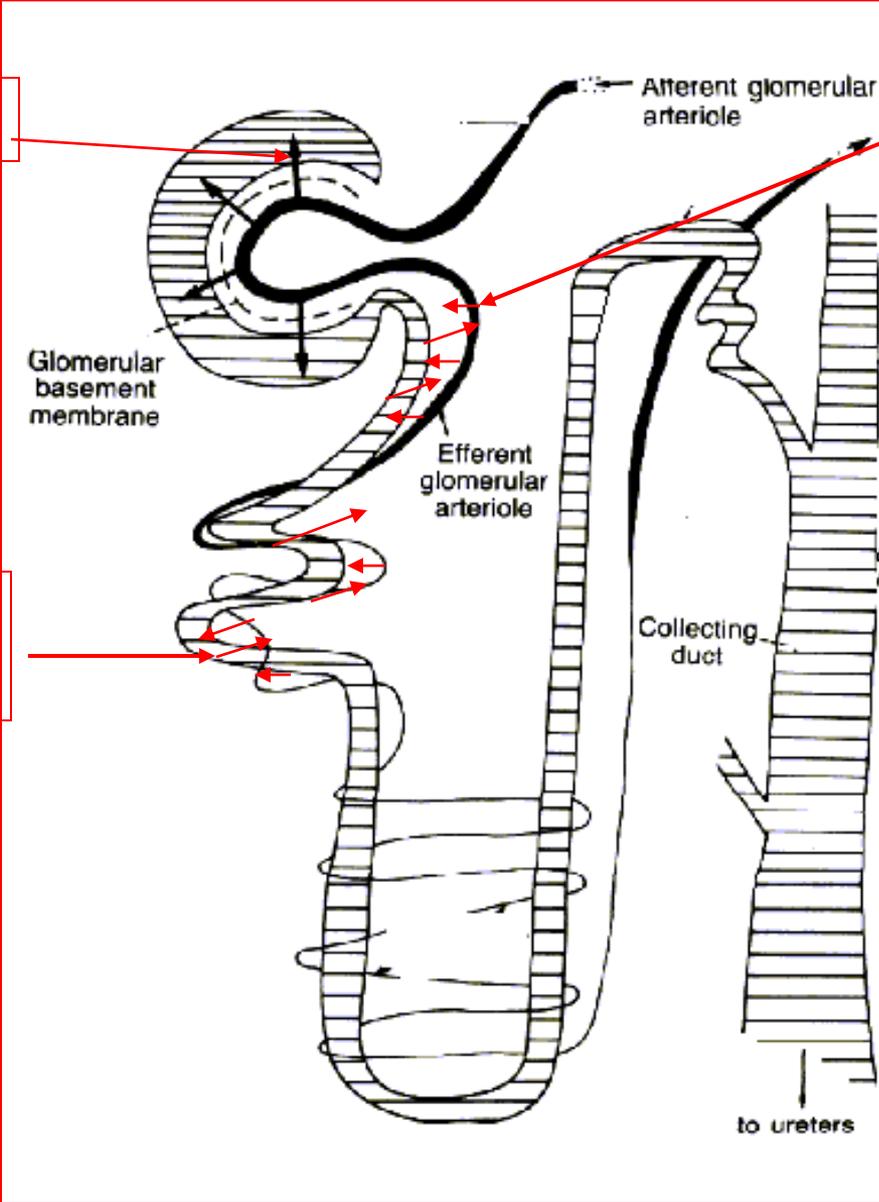
Vie di eliminazione degli xenobioti

Il Nefrone



Xenobiota filtrato

Secrezione attiva
alcuni tossici



Riassorbimento
di alcuni xenobioti

Flusso sangue nel rene
normale: 1500ml/min
Filtrazione
glomerulare
normale: 100ml/min

ELIMINAZIONE DEGLI XENOBIOTI PER VIA RENALE

- 1) Le sostanze **liposolubili** tendono ad essere escreti a concentrazioni simili a quelle presenti nel plasma. La loro concentrazione dipende soprattutto dal volume delle urine
- 2) Le sostanze **polari** tendono ad essere escreti 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
- 3) 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
- 4) I composti che **si ionizzano** facilmente, cioè acidi e basi, vengono escreti in maniera pH dipendente

CLEARANCE

Quantità di plasma che in un minuto viene depurata da una sostanza

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

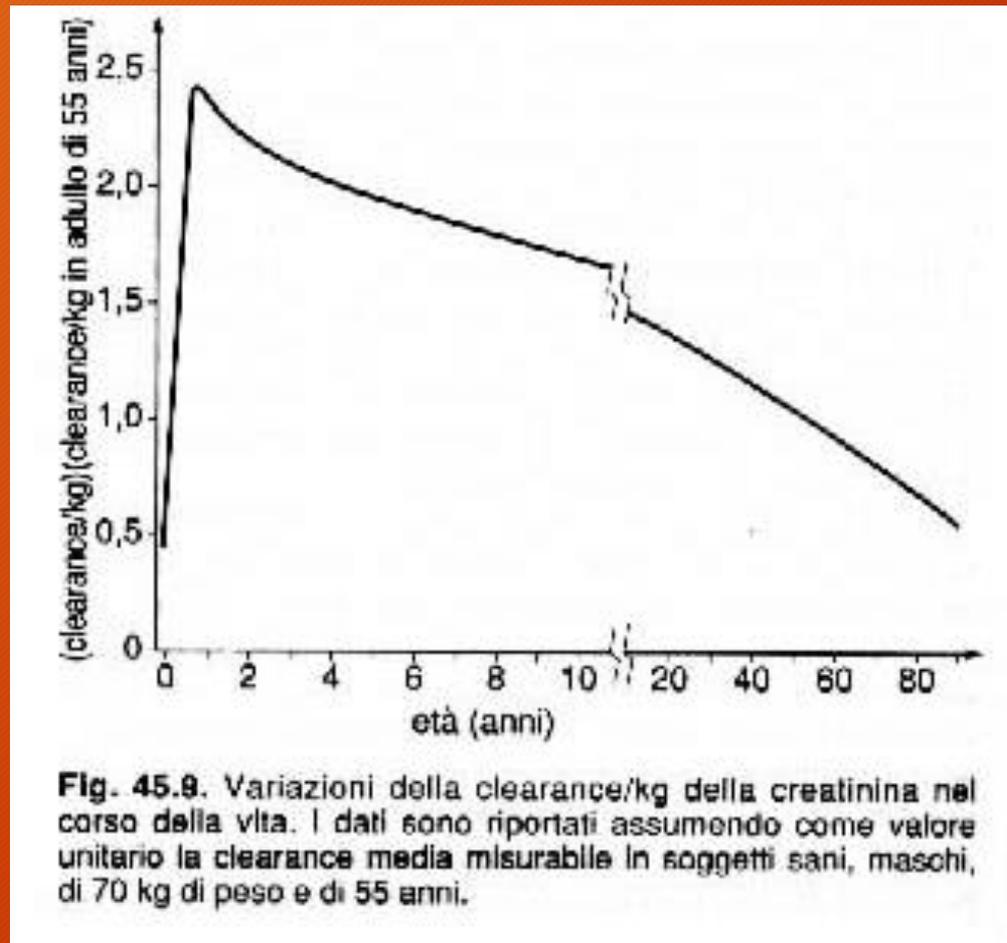
U = Concentrazione della sostanza nell'urina

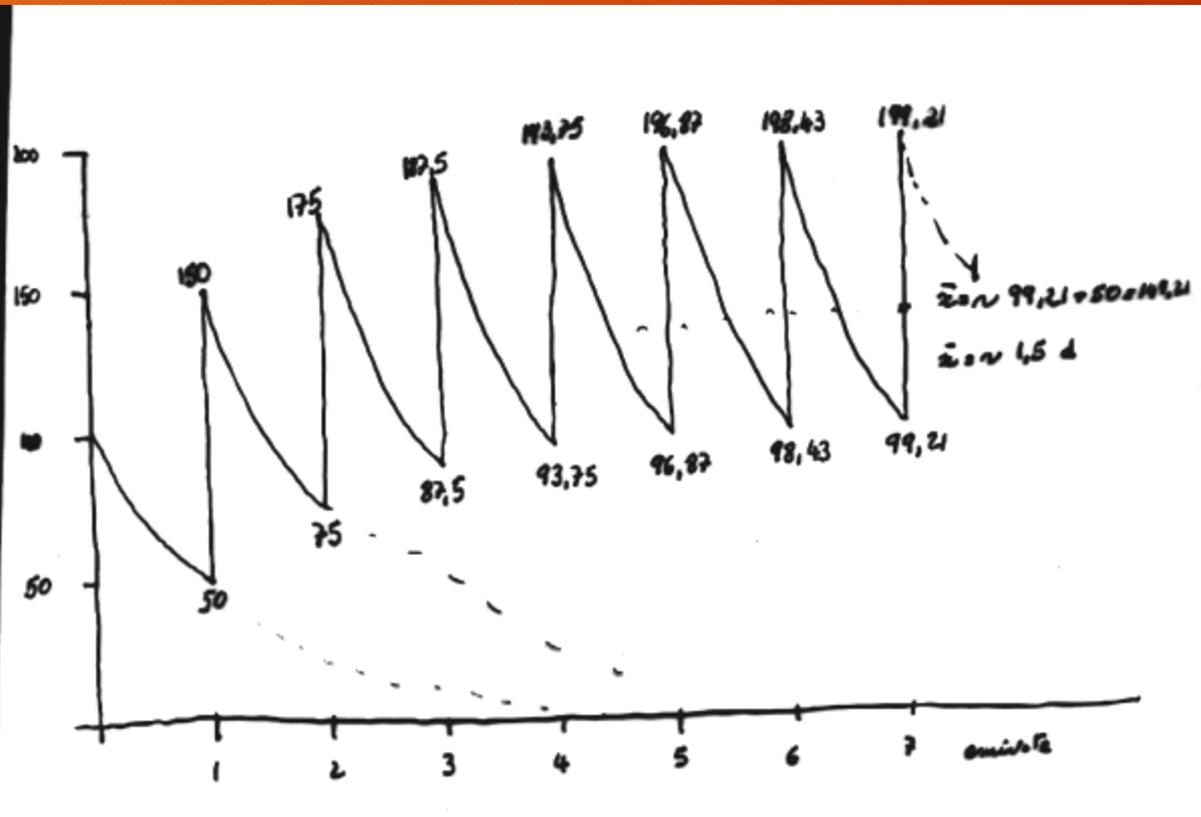
V = Volume urina in 1 min.

P = Concentrazione della sostanza nel plasma

Variazioni della clearance renale

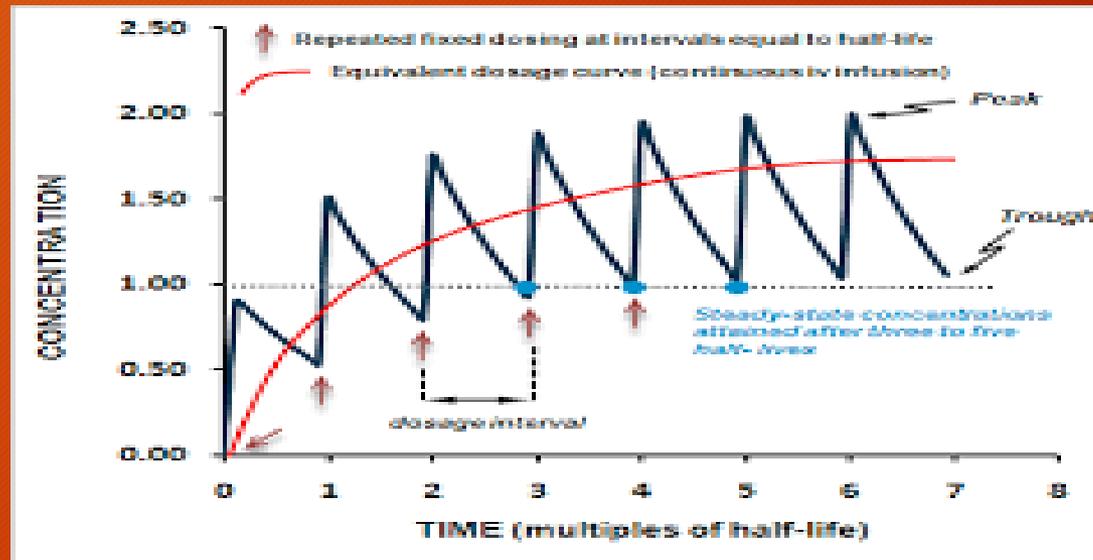
La capacità di eliminazione (clearance) del rene varia con l'età. E' bassissima alla nascita ma è poi molto alta nella prima infanzia fino a scendere gradualmente nell'età adulta. (vedi figura)





E' importante ricordare che l'eliminazione delle sostanze prevede che sia eliminata una percentuale (e non una quantità) fissa nell'unità di tempo. Quindi man mano che le dosi e gli avanzi delle precedenti si sommano tra loro, aumenta la quantità di sostanza che viene eliminata.

In situazioni di assunzioni costanti (dose e tempo) si può dimostrare che avremo un momento in cui la quantità di sostanza che viene eliminata è pari alla quantità della stessa che viene assunta.





L'accumulo che si ha assumendo ripetutamente una sostanza residuale dipende da quanto ne rimane dopo una singola assunzione (quindi dall'emivita), alterazioni dei processi di eliminazione/metabolizzazione della sostanza dovuti ad età, condizioni fisiologiche o parafisiologiche, patologiche, genetiche ecc.

Casarett and Doull's

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

Principi di tossicologia pag 5 -17

Biocinetica dei composti tossici pag 57 – 61
pag71 - 96