

TOSSICOLOGIA



1

PRINCIPI FONDAMENTALI



1

INDICE

In copertina e su questa slide
Simbolo convenzionale
identificativo delle sostanze
tossiche nella UE

Tossicologia: i suoi padri

Tossico o veleno: esempi dalla natura

Tossico o veleno: gli xenobiotici

Fattori che determinano la tossicità di una sostanza

I metodi per testare la tossicità e il Test di Ames

Curva dose-risposta

Valutazione del rischio: dose giornaliera accettabile

Le interazioni tra tossico e sistema biologico:
tossicocinetica, tossicodinamica

Photo credits

Tossicologia: i suoi padri

BioTechnologySanitarie.it

Tossicologia



Simbolo convenzionale
identificativo delle sostanze
tossiche nella UE

La tossicologia è una branca della biologia, della chimica e della medicina (farmacologia) che studia gli effetti collaterali delle sostanze chimiche sugli organismi viventi.

Paracelso

Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim

(1493 - 1541) Medico, alchimista, astrologo svizzero.

Il padre della tossicologia.

“Tutto è veleno: nulla esiste di non velenoso. Solo la dose fa in modo che il veleno non faccia effetto.”

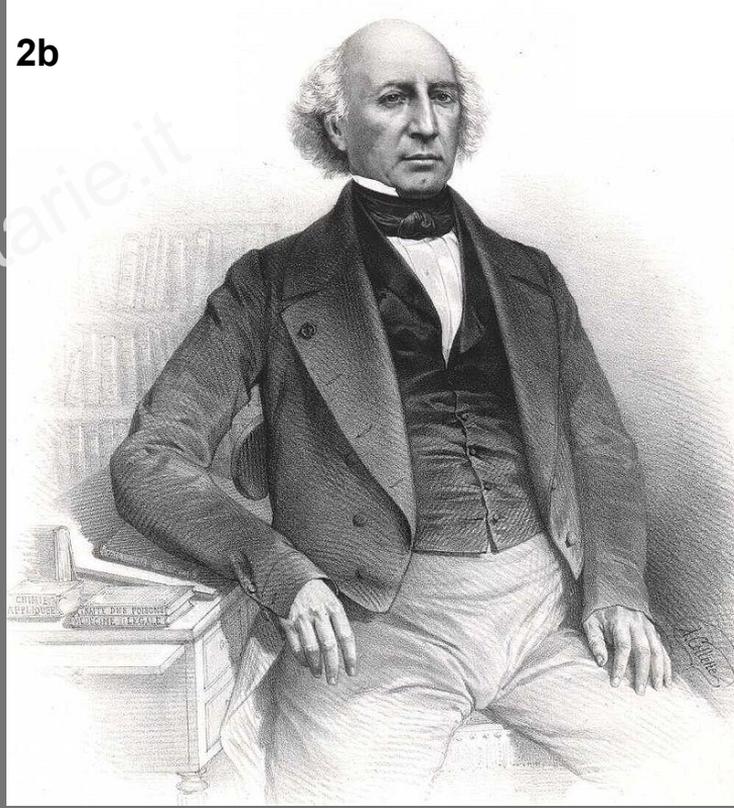


Mathieu Orfila

(1787 - 1853) Tossicologo e chimico francese.

Studiò e mise a punto nuove tecniche e perfezionò quelle esistenti per evidenziare i veleni nel cibo e nei cadaveri. Viene considerato il moderno padre della tossicologia.

Si occupò molto dell'arsenico che, all'epoca in Francia, era chiamato "polvere dell'eredità".





Tossico o veleno: alcuni esempi

BioTechnologieSanitarie.it

Tossico o veleno

Qualsiasi sostanza assunta da un organismo vivente che provoca effetti dannosi, temporanei o permanenti fino ad essere letale, è considerata **veleno o tossico**.

Il meccanismo coinvolto deve essere chimico.

La sostanza può essere **naturale o prodotta dall'uomo per sintesi chimica**.

Tossico o veleno

Tra le **sostanze naturali** si possono elencare diverse molecole prodotte da animali, vegetali, funghi, batteri, alghe ...

La dose, come diversi secoli fa aveva già intuito Paracelso, è quella che fa la differenza sugli effetti che queste sostanze hanno sugli organismi viventi. Vediamo qualche esempio.

Tossico o veleno

Amigdalina. Contenuta nei noccioli di ciliegia, pesca e albicocca, nei semi di mela (ma non nella polpa) e anche nelle mandorle amare, è precursore dell'acido cianidrico. Evitare di rompere i noccioli e di mangiare numerose mandorle amare è un'utile raccomandazione.



Ciliegie

Tossico o veleno

Amigdalina e acido cianidrico.

L'amigdalina, infatti, si trasforma in acido cianidrico (dose letale per l'uomo 50 mg) quando è sottoposta ad idrolisi enzimatica. In particolare subisce l'azione della beta-glicosidasi prodotta dai batteri della flora microbica intestinale, liberando due molecole di glucosio, una di benzaldeide e una di acido cianidrico.



Dose letale di cianuro di potassio

Tossico o veleno

Nicotina. Presente anche in piccole quantità nelle solanacee. Per esempio peperoni, pomodori, melanzane ...

30 - 60 mg (0,5 - 1,0 mg/kg) possono essere mortali per l'uomo.



Fumo di sigaretta

Tossico o veleno

Tetrodotossina. Neurotossina prodotta dal pesce palla che inibisce la funzione respiratoria portando rapidamente a morte. Solo i giapponesi consumano questo pesce perché lo sanno preparare.



6

Pesce palla

Tossico o veleno

L' *Amanita muscaria* o ovolo malefico è un **fungo velenoso** ma anche quelli non velenosi, se consumati crudi, contengono tossine termolabili non facili da digerire.



Esemplare adulto di
Amanita muscaria

Tossico o veleno

Solanina. La solanina si concentra particolarmente nelle patate, nelle zone evidenziate nelle foto. Arriva anche a 100mg/100g e non si neutralizza con la semplice cottura. Per farlo richiede 243°C.



Colorazione verde di patate esposte al sole a rischio tossicità per la presenza di solanina



Germogli di patata dove si concentra la solanina

Tossico o veleno

Fasina. Fitoemoagglutinina presente nei fagioli che non possono essere consumati crudi.



Fagioli

Tossico o veleno

Non dimentichiamo i **serpenti velenosi** il cui morso può essere letale. Di lato vedete un crotalo originario del Sud e Centro America responsabile di diverse morti ogni anno.



Bothrops atrox

Tossico o veleno

Questo è l'animale più velenoso della Terra, conosciuto come **vespa di mare** o **medusa scatola**. Le persone che entrano in contatto spesso non sopravvivono, non per l'effetto del suo veleno ma per l'arresto cardiaco successivo ai dolori atroci.



Chironex fleckeri

Tossico o veleno

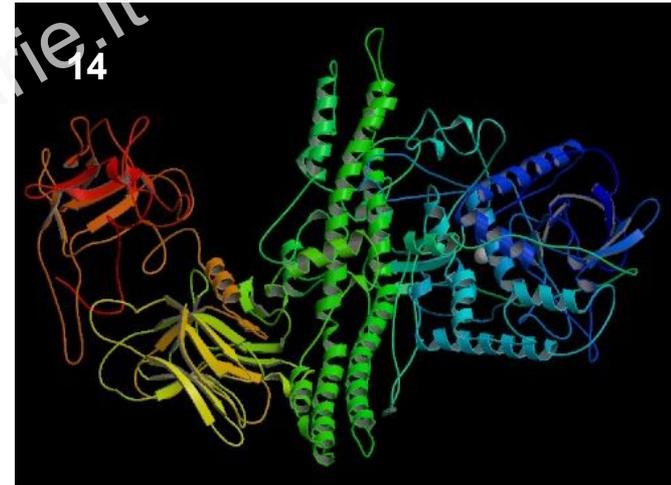
Anche gli innocui ma buoni sgombri come tutto il pesce azzurro possono provocare intossicazioni. Nelle loro carni c'è l'**istidina** che, quando non sono più freschi e subiscono una contaminazione microbica, può essere trasformata in **istamina**.



Sgombri

Tossico o veleno

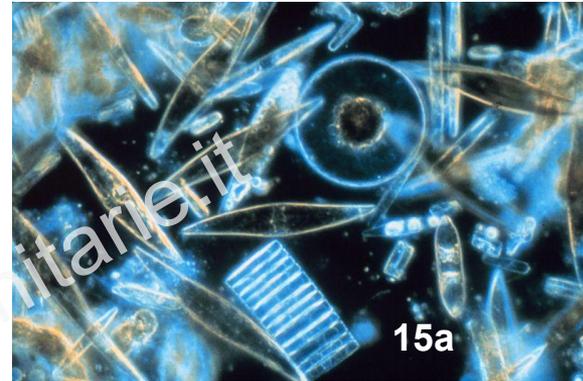
Questa invece è la **tossina botulinica**, un potente veleno ma, a dosi decisamente molto piccole, efficace sostanza usata sia in campo medico che estetico.



Struttura cristallina della **tossina botulinica**

Tossico o veleno

Altre **tossine** sono prodotte da **alghe unicellulari** (soprattutto Dinoflagellati e Diatomee) che contribuiscono a formare il fitoplancton e che ultimamente stanno creando non pochi problemi.



Diatomee



Esempio di dinoflagellato
Ceratum hirundinella

Tossico o veleno

I problemi sono legati alle fioriture algali (bloom) dovute a immissione di contaminanti e eutrofizzazione, cambiamenti climatici e progressiva diffusione di fitoplancton in nuove aree geografiche, aumento di scambi commerciali per la globalizzazione.



Marea rossa in prossimità della costa di La Jolla (California)

Tossico o veleno

Da una parte sono stati segnalati episodi di ricoveri ospedalieri (Liguria) dopo balneazione in zone costiere con fioriture algali di Ostreopsis ovata, specie tipica delle zone tropicali ma che ha già fatto la sua comparsa in numerose zone costiere italiane a partire dalla fine del secolo scorso.



17

Ostreopsis ovata
Isolata nel Golfo di Napoli

Tossico o veleno

I ricoveri ospedalieri sono stati motivati da episodi di faringite, congiuntivite e febbre.

Le fioriture algali di questa ed altre alghe si ripetono ciclicamente e richiedono una continua vigilanza delle acque non solo dal punto di vista della balneazione.

Infatti bisogna tenere conto che in mare, in zona costiera, ci sono allevamenti di mitili e altri molluschi bivalvi che sono degli ottimi filtratori.

Tossico o veleno

I molluschi bivalvi bioconcentrano le alghe microscopiche e quindi le loro tossine, termostabili. Quindi neanche la cottura le neutralizza. A tale proposito è bene ricordare che all'atto dell'acquisto è necessario controllare che i molluschi arrivino da zone controllate.



Mitili e anemoni sul fondale di Portonovo (Marche)

Tossico o veleno

Sui molluschi bivalvi i laboratori dell'ARPA eseguono i controlli sulle seguenti tossine: PSP, DSP, ASP, YTX già dal 1989. Esiste quindi un sistema di vigilanza sulla qualità dei molluschi a cui sfugge il mercato nero.

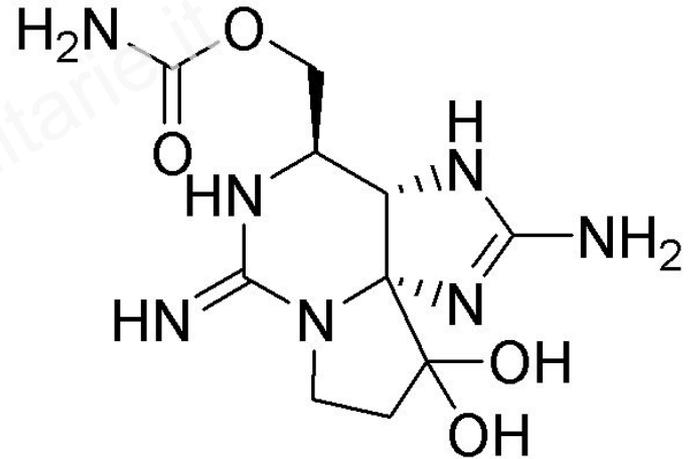
Bisogna invece considerare che il loro consumo, alla luce di quanto detto, può essere un serio problema sanitario sia per sindromi gastroenteriche che del sistema nervoso (tossinfezioni alimentari).

Tossico o veleno

Tossine algali PSP

(Paralytic Shellfish Poisoning)

Le tossine sono prodotte da Dinoflagellati. Da ricordare soprattutto la saxitossina o sassitossina o mitilotossina, resistente al calore e agli acidi.



Saxitossina

19

Tossico o veleno

Tali tossine sono responsabili della sindrome paralitica da molluschi bivalvi. I sintomi si manifestano alcune ore dopo l'ingestione e dipendono dalla quantità di tossina presente. Si tratta di formicolii, parestesie di bocca, lingua, labbra e estremità degli arti superiori, profonda astenia muscolare, incapacità di mantenere la posizione eretta. La morte, nei casi fatali, subentra dopo alcune ore ed è causata da paralisi respiratoria.

Tossico o veleno

I pazienti che superano le prime 12 ore in genere si riprendono spontaneamente. Non ci sono antidoti e quindi si ricorre solo alla lavanda gastrica e alla respirazione artificiale.

La tossina è considerata potenzialmente un'arma e utilizzata in ricerche militari.

Ma è molto utile anche per le ricerche sui “canali del sodio” (membrana cellulare)

Tossico o veleno

Le tossinfezioni di questo tipo si sono registrate soprattutto nelle zone nordamericane in concomitanza con episodi di maree rosse.

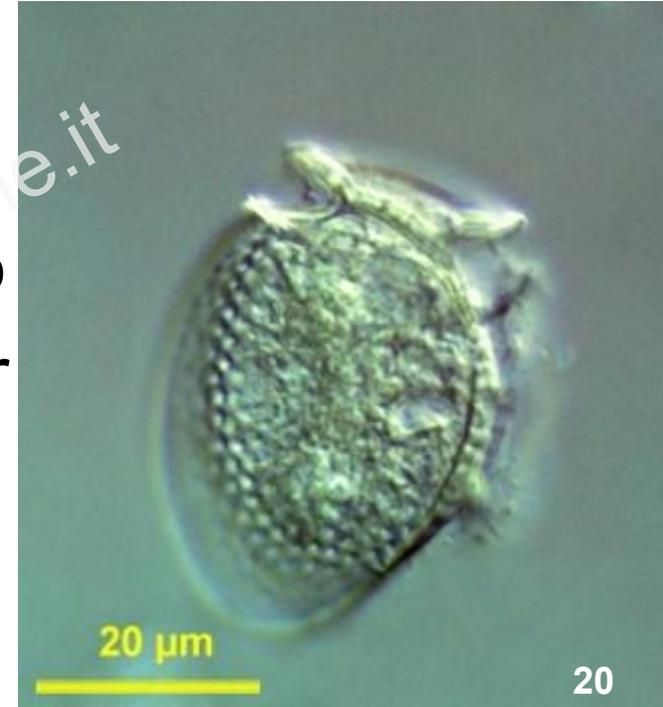
In Italia il D.L. 530/92 stabilisce un limite per la concentrazione di tossine PSP nei mitili pari a
80 microgrammi/100 g di mollusco

Tossico o veleno

Tossine algali DSP

(Diarrhetic Shellfish Poisoning).

Provocano una tossinfezione a carico dell'apparato digerente sostenuta per lo più da dinoflagellati (tra questi il genere *Dinophysys* con più di 200 specie). Diverse le tossine tra cui l'acido okadaico e le dinofisitossine.



Dinophysys acuminata
Dinoflagellato presente nei
mari di tutto il mondo

Tossico o veleno

Tossine algali ASP

(Amnesic Shellfish Poisoning).

Le diatomee sono organismi planctonici diffusi. Alcune specie producono una neurotossina (acido domoico - DA) responsabile di questo disturbo neurologico.



Pseudo- nitzschia seriata

Tossico o veleno

L'acido domoico danneggia l'area dell'ippocampo e dell'amigdala nel cervello perché provoca un anomalo incremento di ioni calcio.

La tossinfezione inizia, 24 ore dopo l'ingestione dei molluschi contaminati, con sintomi a carico dell'apparato gastrointestinale (vomito, nausea, diarrea ...).

Ci vogliono anche fino a tre giorni perché si manifestino i problemi neurologici.

Tossico o veleno

I sintomi neurologici includono mal di testa, vertigini, disorientamento, disturbi della vista, perdita della memoria a breve termine, convulsioni ... aritmia cardiaca e coma.

La morte si è registrata in pochi dei casi accertati ed è collegabile solo alla presenza di alte dosi di tossina ingerita. A malattia superata possono permanere danni alla memoria.

Tossico o veleno

Tossine algali CSP

(Ciguatera Shellfish Poisoning).

La ciguatera è una malattia che si contrae mangiando alcune specie di pesci della barriera corallina la cui carne è contaminata da tossine prodotte da dinoflagellati che vivono in mari tropicali e subtropicali.



Gambierdiscus toxicus
Dinoflagellato

Tossico o veleno

Questi particolari tipi di dinoflagellati aderiscono ai coralli e alle alghe e vengono quindi mangiati dai pesci entrando nella catena alimentare e dando così origine al processo della biomagnificazione.

La ciguatera presenta sia sintomi a carico dell'apparato gastrointestinale che sintomi neurologici comprese le allucinazioni.

I sintomi possono durare settimane o mesi (in casi estremi 20 anni)

Tossico o veleno

La ricerca delle tossine algali nei laboratori italiani si effettua con tre metodi:

- inoculazione intraperitoneale nei topolini Swiss di estratto di mitili
- effetto citotossico su colture cellulari
- biosensore elettrochimico a rilevazione amperometrica per la determinazione dell'acido okadaico



Tossico o veleno: gli xenobiotici

BioTecnologie Sanitarie.it

Gli xenobiotici

Generalmente viene definita xenobiotica una sostanza estranea ad un sistema biologico quindi ad un organismo.

Ma cosa vuol dire veramente che una sostanza è estranea ad un organismo?

Semplicemente che l'organismo non la riconosce come nutriente e che, quindi, non rientra nel suo metabolismo.

Gli xenobiotici

Facciamo degli esempi concreti per capire meglio il concetto. Partiamo dalle sostanze naturali.

Per esempio la cocaina è un alcaloide che si estrae dalla pianta tropicale *Erythroxylum coca*. Tale sostanza non è uno xenobiotico per la pianta che lo produce ma lo è sicuramente per l'uomo.

Lo stesso si può dire per la nicotina. Xenobiotico per l'uomo non lo è sicuramente per il genere di pianta da cui si ricava, la *Nicotiana rustica*.

Gli xenobiotici

Sono quindi sostanze xenobiotiche per l'uomo anche tutte le tossine prodotte da microbi, funghi, piante e animali.

A maggior ragione sono estranee per l'uomo e l'ambiente in genere tutte le molecole di sintesi prodotte in laboratorio, dalle droghe agli antibiotici di sintesi, ai sulfamicidi, ai pesticidi, ai farmaci

Gli xenobiotici

Quindi in totale le sostanze xenobiotiche possono essere

- ❖ farmaci (compresi gli antibiotici)
- ❖ contaminanti ambientali
- ❖ prodotti chimici industriali (pesticidi ...)
- ❖ prodotti di pirolisi della cottura dei cibi
- ❖ alcaloidi
- ❖ tossine di funghi, animali e piante
- ❖ sostanze che dai contenitori migrano su cibi o farmaci

Gli xenobiotici

L'elenco della slide precedente non è certo completo. Basti pensare all'etanolo o agli additivi alimentari.

La caratteristica principale degli xenobiotici è che sono molecole lipofile e con quasi totale assenza di cariche elettriche a pH fisiologico.

Il che ne facilita l'assorbimento ma ne complica l'eliminazione. Infatti l'eliminazione è facilitata per esempio per le sostanze idrosolubili.

Gli xenobiotici

C'è bisogno quindi di tutta una serie di enzimi che li renda più polari e così più facilmente eliminabili per escrezione. In caso contrario si crea un effetto accumulo tossico dovuto ad una prolungata permanenza.

Gli enzimi che catalizzano queste reazioni sono di:

- fase I di funzionalizzazione
- fase II di coniugazione
- fase III di deconiugazione o trasporto



**Alla base della
tossicità c'è ...
la dose!**

Alla base della tossicità c'è ...

... la dose.

Vengono studiati gli effetti:

- di una singola esposizione ad alto dosaggio (tossicità acuta)
- di una continua esposizione a piccole dosi (tossicità cronica); in questo caso conta anche il tempo di esposizione

Esempi di episodi legati alla tossicità acuta:

- inalazione accidentale di un fitofarmaco in quantità notevoli da parte di un agricoltore
- ingestione involontaria di sostanze tossiche da parte di bambini
- errori nell'assunzione di un farmaco dovuti alla mancata comprensione del dosaggio
- morso di un serpente

Esempi di tossicità cronica:

- categorie professionali a rischio perché a contatto con xenobiotici (gli agricoltori che distribuiscono fitofarmaci molte volte nella loro vita ...)
- assunzione di xenobiotici negli alimenti (mercurio nel pesce, pesticidi in frutta e verdura ...)
- assunzione di nicotina nei fumatori

Nel caso di episodi di tossicità acute le conseguenze dirette possono essere:

- morte
- avvelenamento con sintomi diversi a seconda della sostanza e della via di penetrazione
- irritazione di tessuti cutanei, occhi, alte vie respiratorie ...

La dose

Nel caso di esposizioni prolungate a dosi anche molto piccole di una sostanza tossica si possono avere oltre all'avvelenamento altre conseguenze importanti:

- effetto cancerogeno (formazione di tumori)
- effetto mutageno (modifiche nella struttura del DNA)
- effetto teratogeno (malformazioni fetali)

Oltre alla dose bisogna tenere conto della via di ingresso e propagazione.

L'ingresso può avvenire per:

- via cutanea
- via inalatoria
- ingestione

In ogni caso il veleno deve mescolarsi con il sangue per avere effetti.

E poi bisogna tenere presente:

- la natura chimica della sostanza tossica e la sua concentrazione
- l'età del soggetto
- il sesso
- lo stato di salute
- le caratteristiche individuali (fattori genetici)



I metodi per testare la tossicità

BioTecniche Sanitarie.it

I metodi per testare la tossicità

Esistono metodi diretti e indiretti per testare la tossicità.

Metodi diretti.

Test su animali che sono a tutti gli effetti i più efficaci per studiare la tossicità acuta ma sono fonte di numerose polemiche e inoltre non risultano sempre validi per la tossicità cronica. (Per esempio la CE ha vietato l'uso di animali per testare i cosmetici dal 2013).

I metodi per testare la tossicità

Metodi indiretti.

Vengono utilizzati modelli matematici per studiare le interazioni tra molecole ma si richiede la sinergia tra esperti in statistica e in modelli molecolari.

I metodi per testare la tossicità

Ci sono anche dei test su batteri che possono arrivare a valutare su di loro l'effetto di un tossico per verificarne le proprietà mutagene e quindi dedurre un analogo, probabile meccanismo causa-effetto sull'uomo.

Parliamo del **test di AMES**. È molto usato in campo biomedico e farmacologico-industriale nella fase preclinica di sperimentazione di nuove molecole o per analisi ambientale.

I metodi per testare la tossicità

Test di AMES

Prima di passare al metodo sono necessarie alcune considerazioni iniziali. Studiare la mutagenesi, cioè quali sostanze provocano modificazioni nel DNA, è molto complesso.

1. Ovviamente l'interesse principale è sull'uomo e il suo DNA ma l'uomo non può essere usato come cavia.

2. Bisogna allora usare altri organismi su cui i test devono però essere predittivi, avere cioè validità.

I metodi per testare la tossicità

Test di AMES

3. Il DNA è uguale come struttura molecolare in tutti i viventi ma ciò che cambia sono gli enzimi di riparazione del DNA cioè quelli destinati a riparare eventuali mutazioni. Altri enzimi, quelli implicati nella neutralizzazione di sostanze estranee, sono coinvolti. (Nell'uomo gli enzimi di riparazione sono concentrati nell'epidermide, la parte più esposta alle radiazioni, mentre nei batteri tutto è presente nella stessa cellula).

I metodi per testare la tossicità

Test di AMES

4. Altro problema è la bassissima frequenza delle mutazioni (una ogni 10^7 o 10^8 individui). I mutageni indubbiamente aumentano questa frequenza ma bisognerebbe studiare milioni di individui per avere risultati significativi. I batteri rappresentano anche per questo aspetto una valida scelta perché crescono molto velocemente, a bassi costi e con scarsissimo impatto ambientale al contrario di molti altri organismi seppure piccoli.

I metodi per testare la tossicità

Test di AMES

Questo test si basa sulla reversione della mutazione (retromutazione). In un ceppo di mutanti si può presentare in alcuni individui una nuova mutazione che ristabilisce la situazione originaria, cioè quella di partenza. I nuovi individui sono detti revertanti. Prendiamo il caso della *Salmonella typhimurium*. Ci sono ceppi mutanti **his** - (incapaci di produrre istidina, pertanto trasformati in auxotrofi). Il test di Ames parte dall'utilizzo di questi batteri mutati.

I metodi per testare la tossicità

Test di AMES

Le salmonelle auxotrofe si seminano in grande quantità su una piastra con terreno minimo, privo di istidina.

Nel centro si mette un dischetto imbevuto del probabile mutageno da studiare.

La sostanza diffonde nel terreno intorno al dischetto e se è mutagena può indurre mutazioni all'indietro in qualche batterio trasformando alcune salmonelle auxotrofe his - in **his +** (prototrofe, cioè in grado di nuovo di sintetizzare istidina).

I metodi per testare la tossicità

Test di AMES

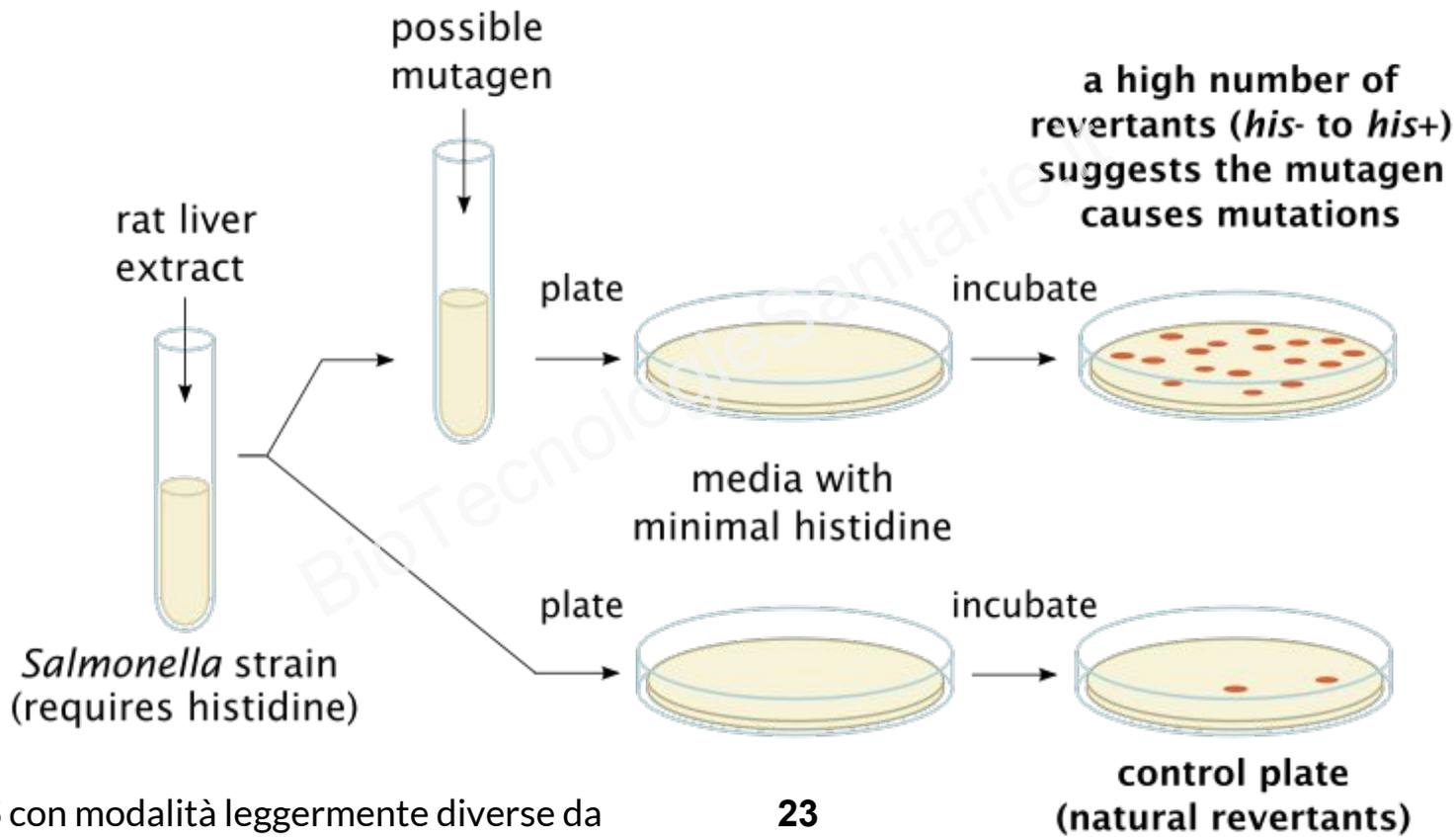
A questo punto le piastre vengono incubate.

La maggior parte delle salmonelle non riesce a crescere perché nel terreno non c'è un nutriente essenziale per la loro crescita.

Diversa la situazione per i revertanti, cioè le salmonelle che hanno subito una mutazione all'indietro e che formeranno colonie nelle dirette vicinanze del dischetto.

Il test è veloce e richiede solo l'aggiunta di estratto di fegato di topo per rifornire il sistema di enzimi necessari per attivare l'azione mutagenica.

I metodi per testare la tossicità



Test di AMES con modalità leggermente diverse da quelle spiegate



Curva dose-risposta

BioTechnologySanitarie.it

Curva dose-risposta

La **dose**, cioè la quantità di tossico a cui è esposto un individuo, viene espressa in:

mg/kg di peso corporeo (o ppm)

È importante la relazione con il peso dell'individuo. Nei bambini ad esempio il dosaggio dei farmaci e di molte altre molecole è inferiore rispetto ad un adulto. Basti pensare anche ai limiti per legge di pesticidi ammessi negli alimenti freschi (100 - 500 ppb) mentre negli alimenti per l'infanzia tale limite si abbassa a 10 ppb.

Curva dose-risposta

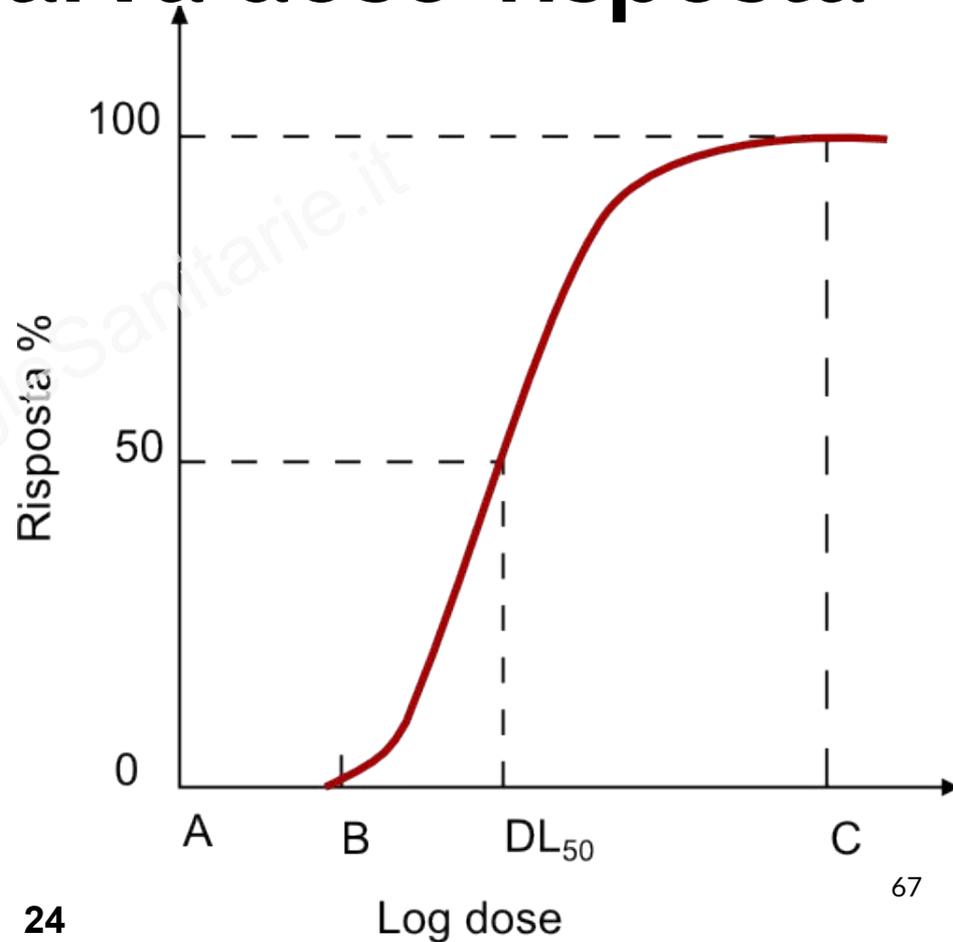
Ma la risposta all'esposizione ad una sostanza tossica varia molto anche da individuo ad individuo.

Ecco perché è importante studiare ciascuna molecola e elaborare la sua curva dose-risposta in seguito ai più opportuni esperimenti di tossicità su popolazioni animali.

Si individuano così alcuni parametri tossicologici molto importanti.

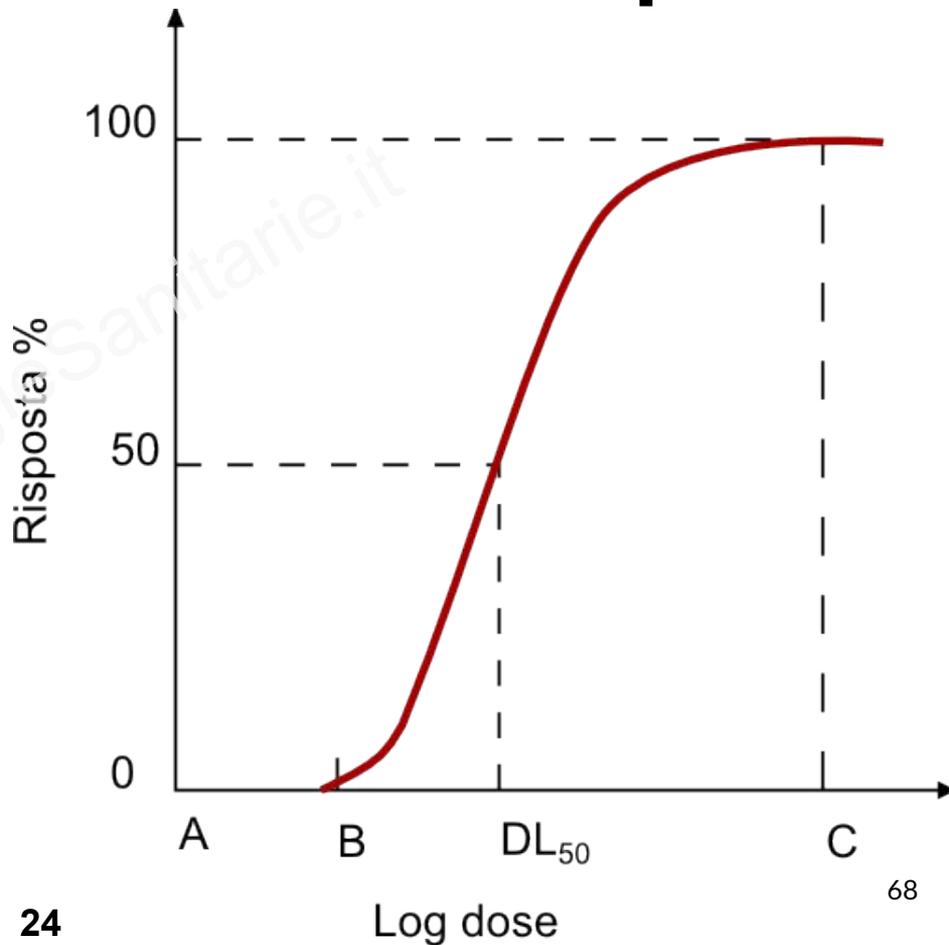
Questa è la **curva dose-risposta** che si ottiene riportando sull'asse delle x le dosi progressive (in scala logaritmica) della sostanza in esame somministrata agli animali e registrando sull'asse y la percentuale degli animali morti.

Curva dose-risposta



Si riesce così a definire la **DL₅₀**. Si tratta della dose in grado di uccidere il 50% delle cavie o di altri animali trattati. In effetti l'effetto-risposta che si cerca è proprio questo. Quanto minore è questo dato, tanto più alta è la tossicità della molecola in esame.

Curva dose-risposta



Curva dose-risposta

Tanto più alto è il DL_{50} , tanto meno tossica è la sostanza. Se la molecola in esame è somministrata per via orale il dato si trasforma in **LOD**₅₀ vale a dire il Letal Oral Dose.

Confrontando i risultati di ricerche diverse viene sempre più confermata la celebre frase di Paracelso: ciò che fa la differenza è sicuramente la dose.

Curva dose-risposta

Altri parametri tossicologici che si possono dedurre dalla curva dose-risposta sono:

- **dose o concentrazione soglia**, cioè la concentrazione al di sotto della quale il tossico sembra non avere effetti negativi
- **NOAEL** (No Observable Adverse Effect Level), la dose più elevata di sostanza che si può somministrare senza che si evidenzino effetti negativi. Si esprime in mg/kg di peso corporeo/al giorno e da qui si ottiene la **dose giornaliera accettabile**

Curva dose-risposta

Quindi il NOAEL si pone immediatamente al disotto della dose soglia.

In molti casi i due parametri vengono confusi e usati senza alcuna differenza.

In realtà non è neanche semplice determinarli sperimentalmente visto che diverse sostanze hanno azione tossica a concentrazioni veramente minime.

Dose giornaliera accettabile

La dose giornaliera accettabile (DGA) (in inglese Acceptable Daily Intake - **ADI**) è un valore molto importante in tossicologia ed esprime la valutazione del rischio, cioè la quantità tollerabile di sostanza che una persona può assumere quotidianamente, per via orale attraverso cibo e acqua, per tutta la sua vita, senza avere effetti avversi, in base alle attuali conoscenze.

Originariamente tale valore era richiesto solo per gli additivi alimentari.

Dose giornaliera accettabile

Si esprime con una formula

$$DGA = NOAEL / \text{Fattore di Sicurezza}$$

Il fattore di sicurezza è un'ulteriore garanzia quando si passa dagli animali all'uomo.

In genere è pari a 100 ma qualche tossicologo propone di alzare il limite a 1000.

Dose giornaliera accettabile

Proviamo a fare qualche conto

- per un uomo di 70 kg
- per una sostanza tossica che l'uomo assume quotidianamente con l'acqua potabile (ipotizzata a 2 litri)
- la cui NOAEL è pari 0,002 mg/kg/die

Dose giornaliera accettabile

$$\text{DGA} = \text{NOAEL} : 100 = 0,002 : 100 = 0,00002 \text{ mg/kg/die}$$

Rispetto al peso corporeo

$$0,00002 \times 70 = 0,0014 \text{ mg/die per un uomo di 70 kg}$$

Rispetto all'acqua che si dovrebbe bere normalmente (2 litri)

$$0,0014 : 2 \text{ litri} = 0,0007 \text{ mg/L} = 0,0007 \text{ ppm}$$

Il conto è molto approssimativo per tutta una serie di fattori ma indicativo.



Le interazioni tra tossico e organismo

BioTechnology@unitar.it

Le sostanze chimiche e i viventi

Quando una sostanza tossica, naturale o xenobiotica, viene a contatto con un organismo vivente bisogna tenere conto di due fasi:

- ❖ la sua esposizione e la via di penetrazione scelta, la distribuzione, la metabolizzazione (biotrasformazione) e l'eliminazione (**tossicocinetica**)
- ❖ le interazioni con i suoi recettori e l'organo o le cellule bersaglio che si verificano dal momento della penetrazione alla eliminazione (**tossicodinamica**)

Tossicocinetica

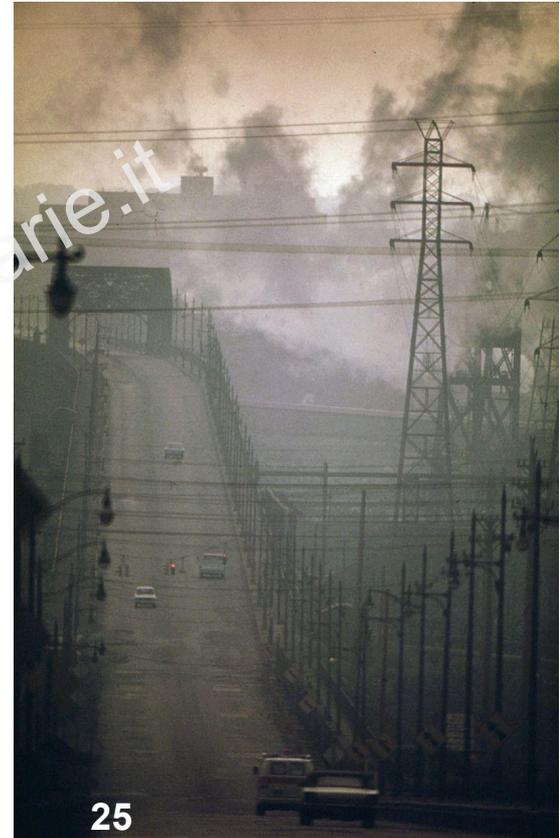
Incominciamo dal primo aspetto, la **tossicocinetica**

1. Esposizione. Le fonti di esposizione possono essere le tre matrici ambientali (aria, acqua e suolo) ma anche l'ambiente confinato (interno di abitazioni, scuole, uffici ... dove la presenza di sostanze chimiche può superare l'esterno) e l'alimentazione.

Non dobbiamo neanche dimenticare l'esposizione professionale (milioni di lavoratori sui luoghi di lavoro per molte ore al giorno).

1. Esposizione

Quando si parla di esposizione diventano importanti anche alcuni parametri fisici come il pH, l'umidità, la temperatura, l'aerazione dell'ambiente.



25

2. Assorbimento

Può avvenire per:

- inalazione di sostanze volatili come gas o particolato molto fine
- contatto cutaneo diretto
- ingestione di cibo o acqua
- iniezione intramuscolare o per via endovenosa (farmaci, droghe ...)



Soldato iraniano

2. Assorbimento

La cute è un sistema di difesa aspecifico ma rappresenta una reale barriera con qualche eccezione.

Per esempio i metalli pesanti e i loro sali o i pesticidi organo-fosforici che sono liposolubili.



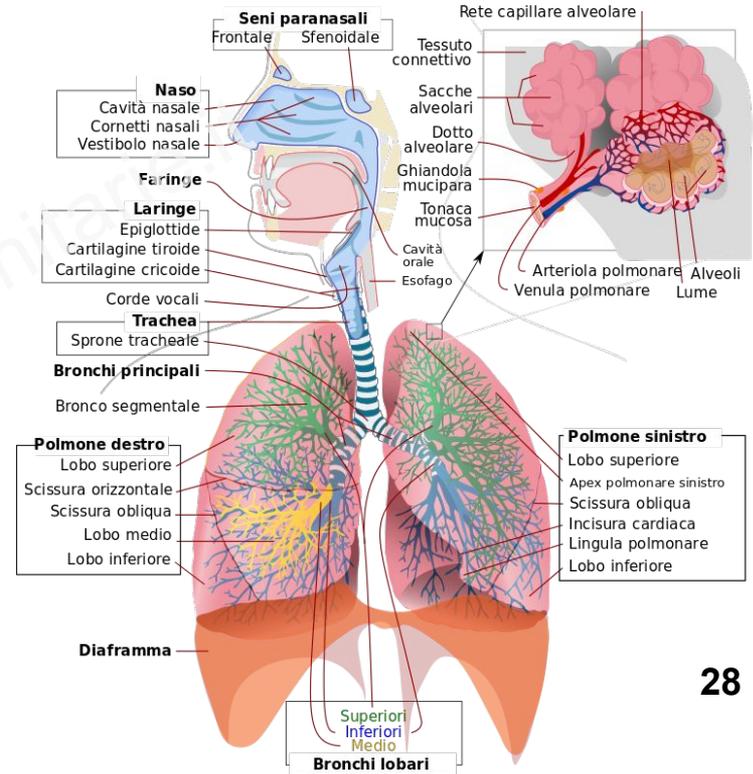
Sezione di cute al microscopio con lo strato cheratinizzato (più esterno), l'epidermide stratificata e il derma sottostante

2. Assorbimento

L'inalazione riguarda sia gas quanto sostanze volatili o particolato a cui possono essere adese altre molecole.

In questo caso i fattori che incidono di più sono le dimensioni e la solubilità in acqua.

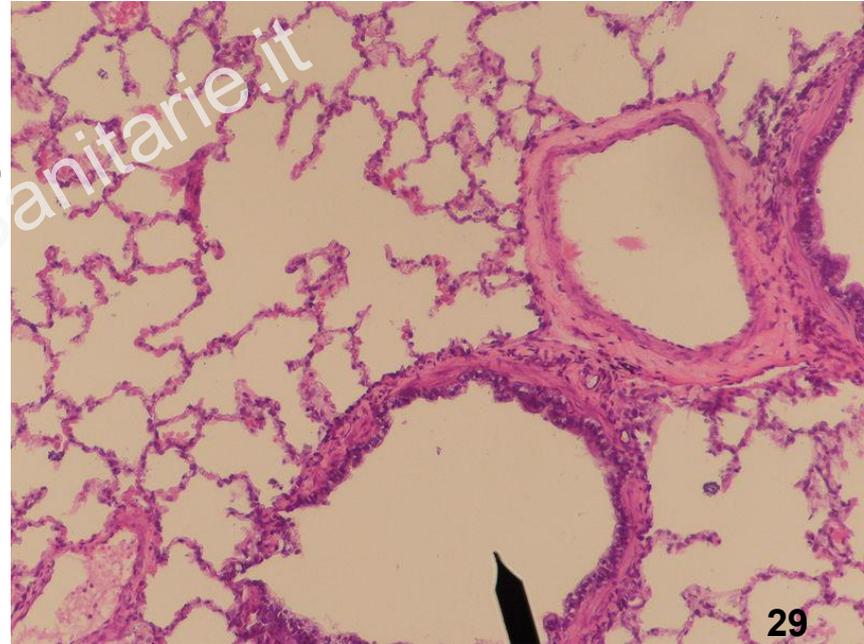
Tossicocinetica



2. Assorbimento

Quanto più le particelle di particolato sono sottili, tanto più riusciranno a scendere nell'albero respiratorio. Se sono più grossolane possono essere trattenute dalle ciglia di rivestimento ed espulse. Se raggiungono gli alveoli possono entrare nel sangue o nella linfa.

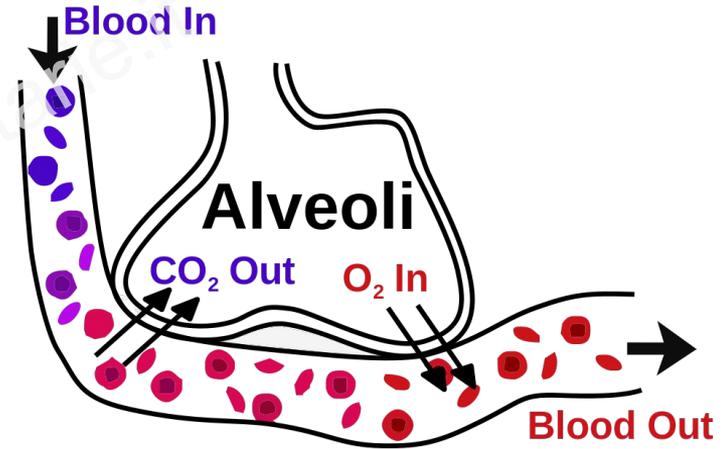
Tossicocinetica



Sezione di due bronchioli e diversi alveoli al microscopio

2. Assorbimento

Un altro aspetto importante nell'inalazione di sostanze chimiche è la loro idrosolubilità visto che l'epitelio respiratorio è ricoperto da un sottile strato di umidità. Ciò detto va anche ricordato che ci sono sostanze poco idrosolubili come il silicio che vengono assorbite lo stesso.



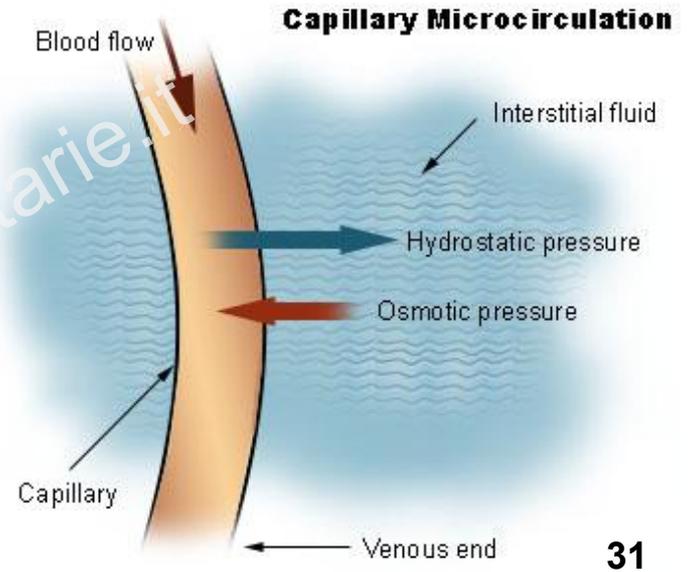
30

Schema di scambio gassoso a livello polmonare

3. Distribuzione

Una volta penetrati all'interno dell'organismo le sostanze chimiche vengono trasportate dai vasi sanguigni e linfatici e prendono contatto con i liquidi interstiziali ed endocellulari. Solo le sostanze non ionizzate passano attraverso la membrana cellulare.

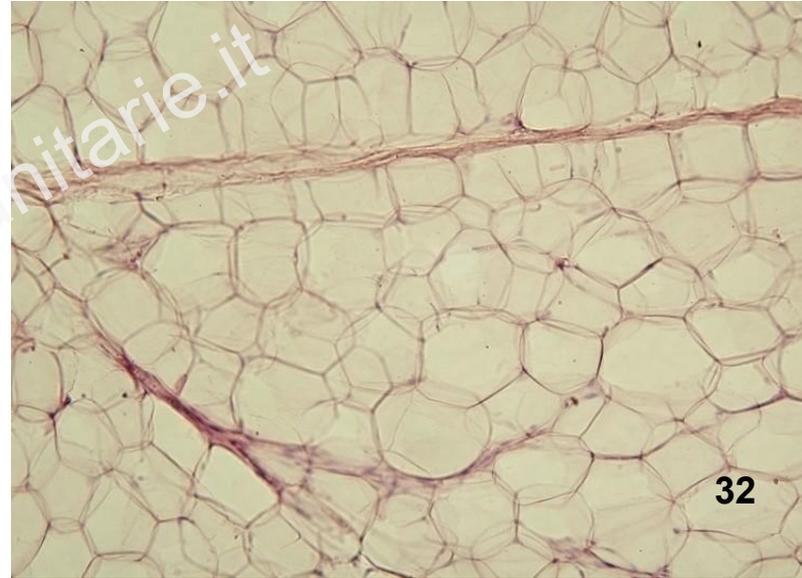
Tossicocinetica



Liquido interstiziale a contatto con un capillare

3. Distribuzione

Li aspettano poi siti di accumulo come il tessuto adiposo o quello osseo (vedi il piombo), di metabolizzazione, di escrezione (reni, intestino ... e branchie nei pesci per esempio) oppure gli organi bersaglio dove avviene l'interazione con cellule e tessuti.

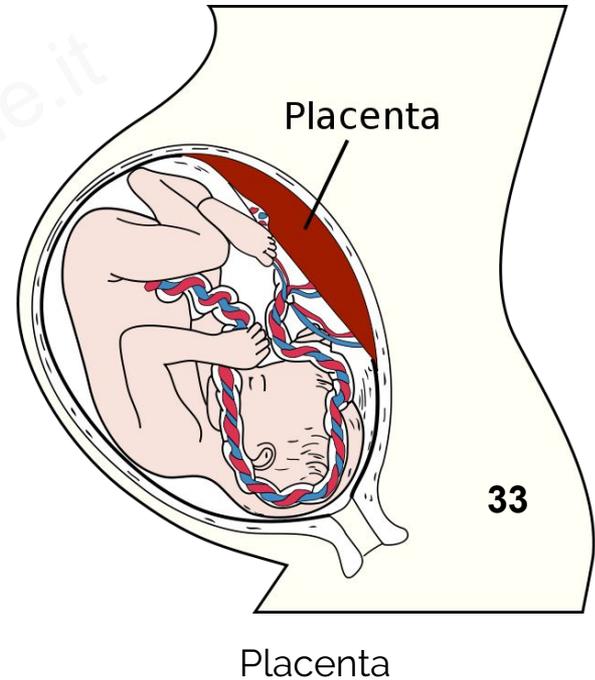


Tessuto adiposo

3. Distribuzione

Nel corpo però esistono delle barriere, non sempre facili da superare come la barriera emato-encefalica e placentare.

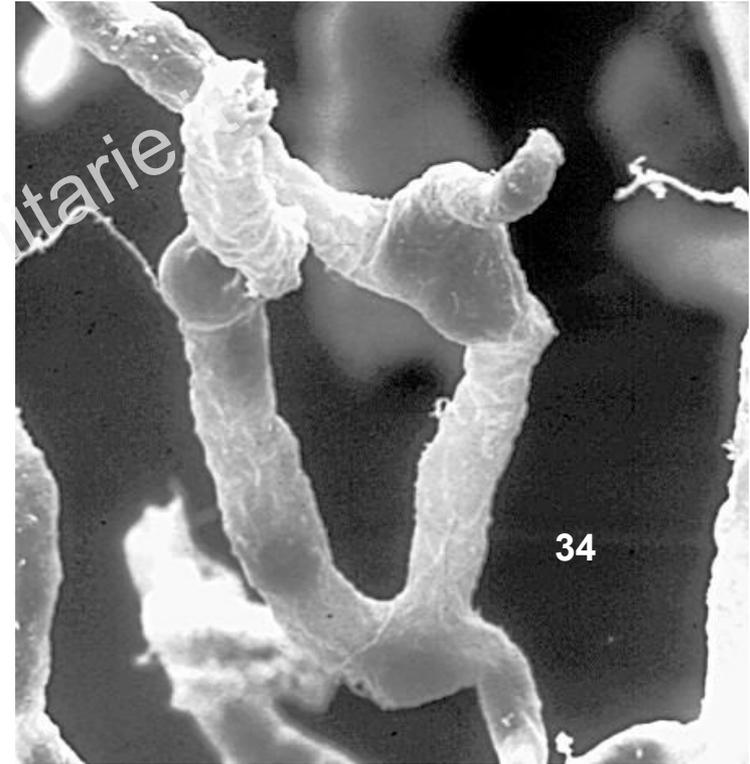
Nel caso della placenta la separazione è netta tra sangue materno e fetale ma la placenta non funziona sempre come barriera inespugnabile, per esempio verso molti microbi.



3. Distribuzione

La barriera emato-encefalica è invece molto più efficace. La parete dei capillari sanguigni che irrorano il SNC è formata da cellule endoteliali strettamente addossate le une alle altre grazie anche alla presenza di giunzioni occludenti. Non ci sono quindi le usuali fenestrature.

Tossicocinetica



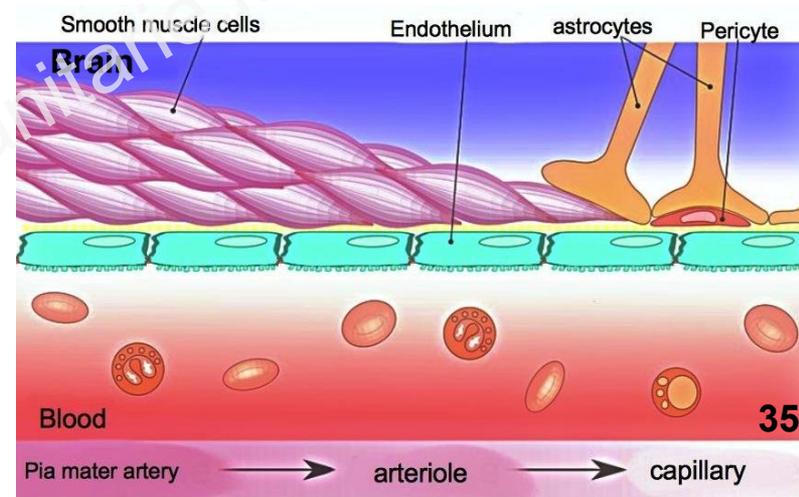
Capillari sanguigni del cervello

3. Distribuzione

Questo fa sì che si possa tenere sotto controllo molto meglio il passaggio di tante molecole.

Anche gli astrociti contribuiscono alla creazione di questa barriera attraverso una sorta di peduncoli.

Tossicocinetica



Vasi sanguigni all'interno
del cervello

3. Distribuzione

Lo si vede bene nell'immagine di sotto il ruolo svolto dagli astrociti (cellule della nevroglia).

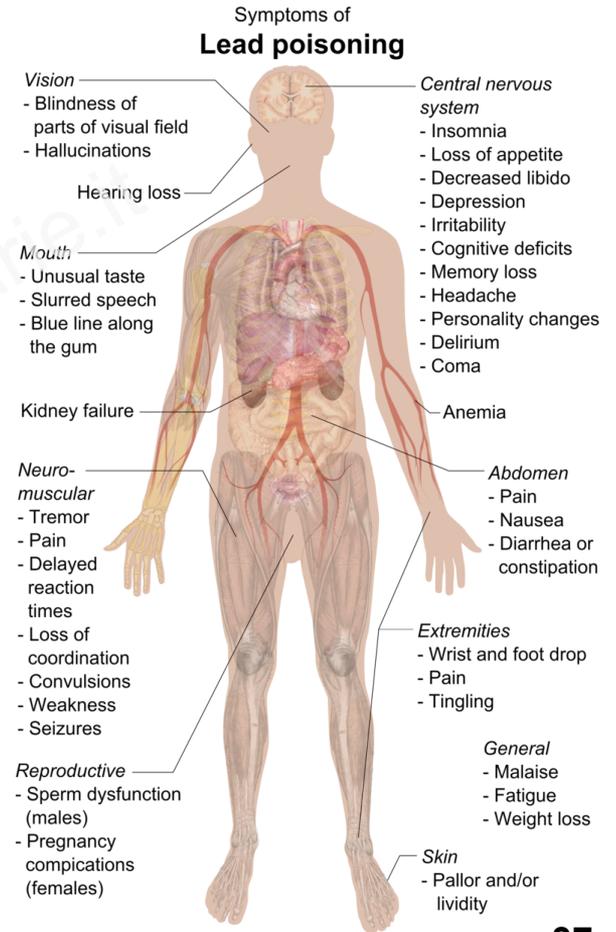


Ovviamente la barriera deve far passare le sostanze nutritive e quelle di rifiuto. Lo fanno le sostanze lipofile con i tipici meccanismi di trasporto.

Astrociti e capillare all'interno del cervello

3. Distribuzione

Un'eccezione è rappresentata dal piombo tetraetile e tetrametile che nonostante non siano lipofili riescono comunque a superare la barriera emato-encefalica e a causare i sintomi tipici dell'intossicazione da piombo nel SNC. Di fianco lo schema di tutti gli organi interessati dal saturnismo.



3. Distribuzione

Fenomeno di tossicità ritardata. Caso che si verifica quando c'è la mobilizzazione improvvisa del tossico depositato nel tessuto adiposo o nel tessuto osseo.

Nel primo caso si può verificare per l'allattamento o una dieta dimagrante.

Nel secondo caso per frattura ossea.

In tutte e due le circostanze il tossico può raggiungere il suo organo bersaglio molto velocemente e in grosse quantità.

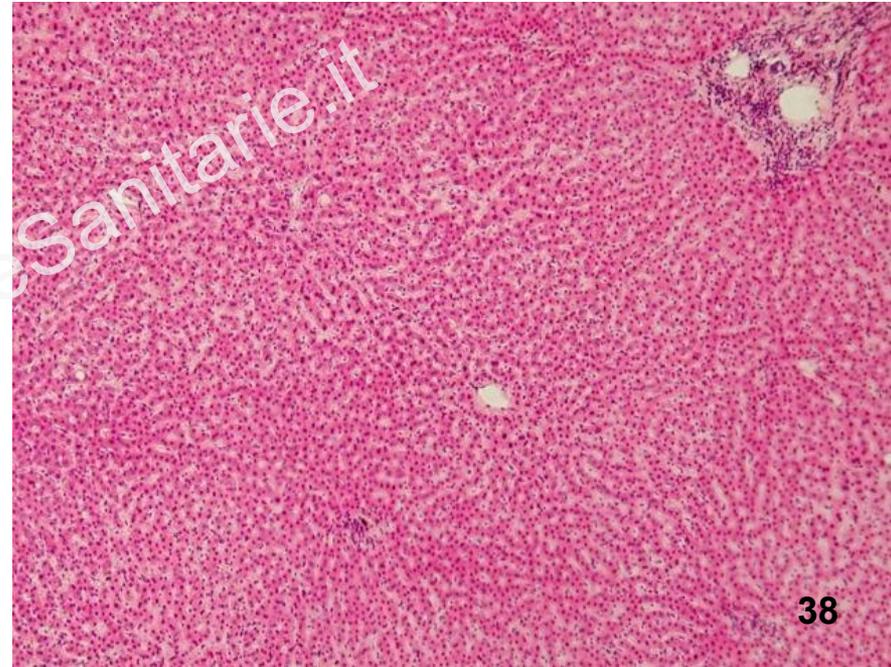
4. Biotrasformazione L'organismo cerca sempre una via metabolica per rendere più innocuo il tossico per poi eliminarlo. La via biochimica preferita è l'idrolisi che in genere vede coinvolto il fegato in prima persona ed una serie di enzimi ben conosciuti divisi in due fasi.

Possono però essere coinvolti anche polmone, rene e intestino.

Si tratta quindi di una vera e propria strategia di difesa che in qualche caso però può dare origini a metaboliti intermedi instabili (bioattivazione).

4. Biotrasformazione

Le reazioni di fase I o prima fase (redox e idrolisi) avvengono nelle cellule epatiche e implicano la riduzione delle grosse molecole e la presenza finale di gruppi funzionali ad alta reattività: $-COOH$, $-SH$, $-OH$, $-SH_2$



Tessuto epatico umano

4. Biotrasformazione

Queste reazioni di prima fase sono mediate da un gruppo di enzimi noto come **monossigenasi citocromo P450 dipendenti (CYP)**.

Si tratta di isoenzimi per lo più epatici che come tutti i citocromi sono proteine presenti nelle membrane cellulari di mitocondri e reticolo endoplasmatico, dove hanno il compito di trasferire elettroni da un livello energetico alto ad uno più basso. Quindi catalizzano l'ossidazione di molti composti endogeni (prodotti di scarto del metabolismo) ma anche dei farmaci e di molte altre molecole esogene ...

4. Biotrasformazione

I citocromi P450 sono quindi molto importanti nei processi di detossificazione anche perché sono in grado di agire su numerosi substrati. Se ne conoscono più di 7700 in tutti i regni dei viventi.

CYP1A1: attivo nel tessuto polmonare sugli idrocarburi aromatici

CYP1A2: con localizzazione epatica, agisce sulla aflatoossina B di *Aspergillus flavus*, una micotossina ad alto potenziale cancerogeno

4. Biotrasformazione

La famiglia **CYP2** è molto numerosa e comprende enzimi che agiscono su molti inquinanti ambientali e farmaci diffusi come gli antidepressivi, gli antipertensivi, gli analgesici, gli antistaminici ...

Il **CYP2B** agisce sui pesticidi organo clorurati.

Il **CYP2D6** è uno dei più importanti nelle reazioni a carico degli xenobiotici

Il **CYP2A6**, presente anche nelle cellule polmonari è coinvolto nel metabolismo della nicotina

4. Biotrasformazione

Le **reazioni di seconda fase o fase II** sono mediate da un altro gruppo di enzimi (**enzimi di coniugazione**) che hanno il compito di legare i metaboliti della fase I con altri metaboliti endogeni (peptidi, acido glucuronico, carboidrati ...) proseguendo quindi nell'azione di detossificazione perché le sostanze prodotte diventano sempre più idrosolubili ed è così più facile eliminarle con i liquidi biologici. Questa per esempio è la via di detossificazione dell'aspirina: coniugazione con acido glucuronico.

4. Biotrasformazione

La situazione però non è così semplice come sembra. Prima di tutto a volte si possono formare dei metaboliti intermedi molto reattivi anche in questa fase. Per esempio da alcuni derivati N-coniugati delle ammine aromatiche si origina lo **ione nitronio** grazie all'ambiente acido delle urine. Lo ione nitronio è cancerogeno e si può così spiegare la correlazione tra cancro della vescica ed esposizione alle ammine aromatiche.

4. Biotrasformazione

In secondo luogo le vie metaboliche non sono mai così nette e distinte le une dalle altre e ogni individuo in seguito a mutazioni genetiche del suo corredo enzimatico può reagire in modo diverso.

Si deve prendere in considerazione che questi enzimi sono sotto il controllo di geni polimorfici, cioè geni che hanno più alleli nella popolazione. Si può così spiegare come mai la somministrazione di un farmaco ben tollerato possa causare qualche problema ad alcuni.

4. Biotrasformazione

Non solo. I metaboliti intermedi prodotti in entrambe la fasi sono molti e diversi, come abbiamo visto.

In questo senso si potrebbe spiegare la correlazione tra alcuni xenobiotici e forme di cancro localizzate.

Il benzene sembra essere collegato a forme tumorali nel sangue.

Mentre gli IPA sarebbero associati al cancro al polmone.

Tossicodinamica

Tossicodinamica.

Nel periodo che intercorre tra la penetrazione del tossico e la sua eliminazione, la sostanza ha il tempo di interagire con la molecola o la cellula bersaglio.

Si tratta di una serie di modificazioni biochimiche e fisiologiche che possono avere solo un **effetto locale** e quindi circoscritto oppure **effetto sistemico** coinvolgendo tutto l'organismo. La stessa sostanza tossica come i metalli pesanti può avere entrambi gli effetti.

Tossicodinamica

Tossicodinamica.

I bersagli possono essere molecole come proteine, acidi nucleici, lipidi di membrana, membrane cellulari.

Le sostanze possono essere classificate come agoniste o antagoniste. Le **sostanze agoniste** sono quelle che attivano il recettore esattamente come farebbero le molecole endogene, amplificando la sua risposta. Gli **antagonisti** bloccano invece il recettore e quindi l'azione degli agonisti endogeni.

Tossicodinamica

Tossicodinamica.

Gli antagonisti si possono classificare a loro volta in competitivi e non competitivi.

La **competitività** si verifica quando agonista ed antagonista competono per lo stesso recettore.

La **non competitività** si realizza invece quando l'antagonista impedisce all'agonista di agire normalmente senza occupare i recettori.

- 1** Di sconosciuto - EPS file skull.eps from UNECE web site converted with ImageMagick convert and with potrace, edited in inkscape, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4983904>
- 2a** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4335>
- 2b** By Litograph by Alexandre Collette (1814-1876). Original uploader was User Magnus Manske on en.wikipedia - from here., Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=802016>
- 3** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=258513>
- 4** Di morienus (uploaded by de:Benutzer:BXXXD from de:wiki) - own photo, CC BY-SA 3.0 <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=217787>
- 5** Visual Hunt
- 6** Di National Oceanic and Atmospheric Administration - "The Shore Fishes of the Hawaiian Islands, with a General Account of the Fish Fauna", by David Starr Jordan and Barton Warren Evermann. Bulletin of the United States Fish Commission, Vol. XXIII, for 1903. Part I. P. 574, Plate LXVI. Available online at <http://www.photolib.noaa.gov/htmls/fish3086.htm>., Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4214259>
- 7** Di Jyar - Opera propria, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8467148>
- 8** Di Rasbak - Opera propria, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1071341>
- 9** Di Mathias Karlsson - Opera propria, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=821104>
- 10** rebeccac411 via Visual hunt / CC BY
- 11** Di Andreas Schlüter - <http://calphotos.berkeley.edu>, CC BY-SA 2.5, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=6767891>
- 12** Di io - io, Pubblico dominio, <https://it.wikipedia.org/w/index.php?curid=1906574>
- 13** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=175383>
- 14** Di Lacy, D.B., Tepp, W., Cohen, A.C., DasGupta, B.R., Stevens, R.C. - PDB-Bild 3BTA, CC BY-SA 2.0 de,

- 15a** Di Prof. Gordon T. Taylor, Stony Brook University - corp2365, NOAA Corps Collection, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=246319>
- 15b** Di Minami Himemiya - Opera propria, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4975413>
- 16** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=396343>
- 17** Di Cybergerac - Opera propria, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=44669619>
- 18** Di BobFog di Wikipedia in italiano, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2658951>
- 19** CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=120823>
- 20** By fjouenne - <http://planktonnet.awi.de/>, CC BY-SA 3.0 nl, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5552271>
- 21** By Minami Himemiya - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4975350>
- 22** By National Centers for Coastal Ocean Science. USA.gov Department of Commerce National Oceanic and Atmospheric Administration National Ocean Service - http://products.coastalscience.noaa.gov/pmn/image_gallery_dinoflagellate.aspx, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=41320781>
- 23** By Histidine - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=13155414>
- 24** Immagine di mia proprietà
- 25** By Frank J. (Frank John) Aleksandrowicz, 1921-, Photographer (NARA record: 8452210) - U.S. National Archives and Records Administration, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=17100801>
- 26** By UNKNOWN - Scanned from BBC Farsi TV channel, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=44225744>
- 27** Di Kilbad - Opera propria, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5010588>
- 28** Di File:Respiratory system complete en.svg - LadyofHats translation by: Aushulz - File:Respiratory system complete en.svg, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5662028>

- 29** Di Jpogi di Wikipedia in inglese - Trasferito da en.wikipedia su Commons., Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8043927>
- 30** By helix84 - en:Image:Alveoli.jpg, CC BY 2.5, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1737765>
- 31** Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1217912>
- 32** CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=600755>
- 33** Di Gray38.png: User Magnus Manske on en.wikipediaderivative work: Amada44 talk to me - Gray38.png, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11650416>
- 34** By Dan Ferber - <http://biology.plosjournals.org/perlserv/?request=slideshow&type=figure&doi=10.1371/journal.pbio.0050169&id=79321>, CC BY 2.5, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5622732>
- 35** By Armin Kübelbeck - http://en.wikipedia.org/wiki/File:Blood_vessels_brain_01.png, CC BY 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=24437607>
- 36** By Ben Brahim Mohammed - Own work, CC BY 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=12263975>
- 37** By Mikael Häggström - Own work, CC0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=40804069>
- 38** CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=830426>