

**ZANICHELLI**

Fabio Fanti

# Biologia, microbiologia e tecnologie di controllo sanitario

# La tossicologia

# Xenobiotici, veleni e tossine

Uno **xenobiotico** è una sostanza chimica estranea a un sistema biologico o a un intero ecosistema.

Le **sostanze ad azione tossica** sono un gruppo di molecole eterogeneo che possono determinare effetti nocivi sull'uomo, sugli animali e in generale sugli ecosistemi. Possono essere:

- Farmaci
- Additivi alimentari
- Pesticidi
- Sostanze chimiche di sintesi
- Inquinanti ambientali
- Detergenti domestici
- Tossine naturali

# Gli effetti acuti e cronici della tossicità

Una sostanza può avere una **tossicità**:

- **acuta** quando si valutano gli effetti a breve scadenza del danno causato dall'assunzione di una determinata dose di tossico
- **cronica** quando ci si riferisce agli effetti che la sostanza in esame presenta se assunta in concentrazioni basse, ma per lungo tempo

Gli **effetti** possono essere: **cancerogeni** (induzione di tumori) **mutageni** (modificazioni nel DNA) e **teratogeni** (sviluppo di malformazioni fetali).

Il **test di Ames** permette di verificare l'eventuale attività mutagena di una sostanza sul DNA batterico per dedurre il probabile effetto cancerogeno sull'uomo.

# Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /1

Il destino di una sostanza che penetra nell'organismo evolve attraverso due fasi:

- **fase tossicocinetica:** assorbimento, distribuzione, biotrasformazione ed eliminazione della sostanza
- **fase tossicodinamica:** nel tempo che intercorre fra ingresso nell'organismo ed eliminazione, la sostanza rimane biodisponibile e raggiunge l'organo bersaglio. In questa fase si verificano le interazioni fra tossico e recettore, si produce il danno cellulare e si rendono evidenti gli effetti patologici.

# Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /2

**Esposizione ed assorbimento:** una sostanza può essere assorbita dall'organismo con l'alimentazione, con la respirazione o per penetrazione attraverso la cute.

La quantità dell'assorbimento dipende dalla concentrazione della sostanza nell'ambiente, mentre la velocità e l'entità dell'assorbimento dipendono dalle proprietà chimico-fisiche della sostanza (peso molecolare e idro- o liposolubilità).

**Distribuzione:** nei vertebrati trasporto e distribuzione di uno xenobiotico all'interno dell'organismo avvengono attraverso il circolo sanguigno, i vasi linfatici e l'acqua endocellulare e interstiziale.

# Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /3

**Biotrasformazione:** l'organismo adotta strategie biochimiche e metaboliche per detossificare o inattivare il tossico, per poi eliminarlo all'esterno.

L'organo più interessato a questi processi è il **fegato**, ma sono coinvolti anche l'intestino e il pancreas.

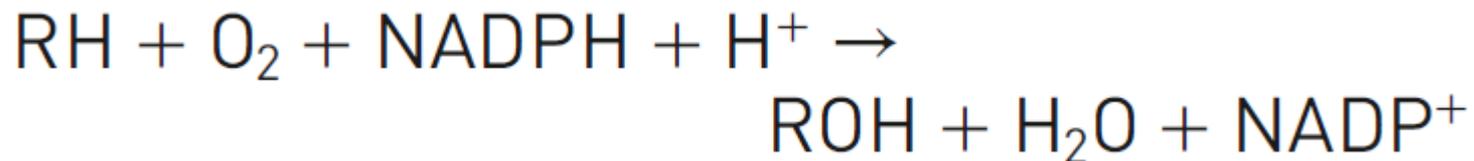
Le biotrasformazioni comprendono le reazioni di fase I e II.

Nella **fase I** si hanno reazioni redox e di idrolisi, in cui le macromolecole xenobiotiche organiche sono parzialmente convertite in composti che hanno dimensioni inferiori e che presentano gruppi funzionali ad alta reattività come -COOH, -SH, -OH.

# Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /4

Nella fase I intervengono le **monoossigenasi a funzione mista**, complessi multienzimatici che hanno come coenzima il **citocromo P<sub>450</sub>**.

Il *sistema P<sub>450</sub>* comprende emoproteine enzimatiche della classe delle ossidasi in grado di ossidare gli xenobiotici in presenza del coenzima NADPH:



# Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /5

Nella **fase II** intervengono enzimi che catalizzano reazioni di coniugazione che legano il prodotto della fase I con metaboliti endogeni.

L'obiettivo è di rendere più idrosolubile il composto chimico, da eliminare con i fluidi biologici.

**Eliminazione dei composti tossici:** può avvenire attraverso i reni, il fegato, i polmoni, le feci, il sudore, la saliva e il latte.

# Tossicodinamica e relazione dose-risposta /1

La **tossicodinamica** studia gli effetti e i meccanismi d'azione delle sostanze tossiche, nonché la relazione fra concentrazione del farmaco ed effetto.

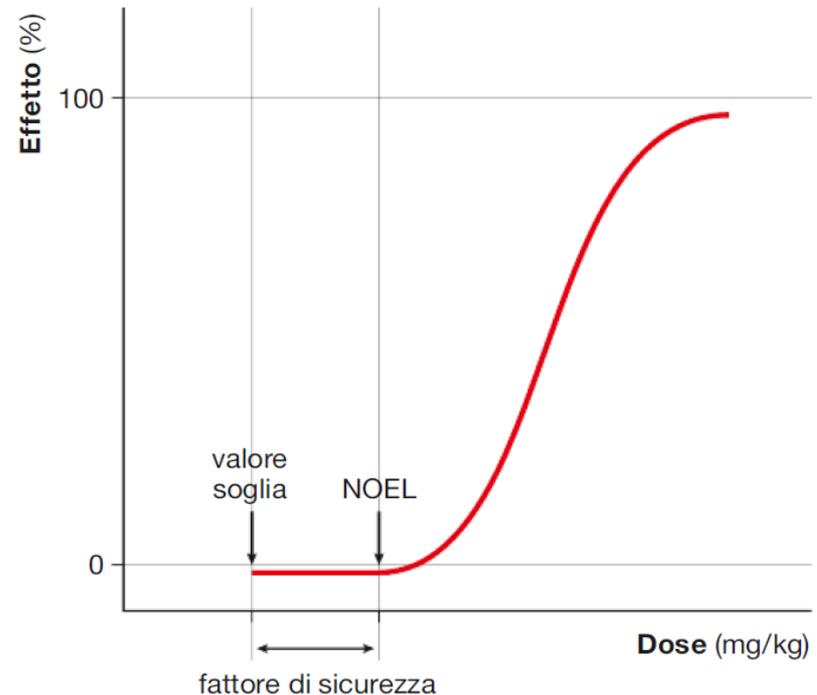
Il parametro fondamentale è la **dose** (espressa in mg/kg o ppm): la quantità di sostanza somministrata per unità di peso dell'animale da esperimento e per il tempo di somministrazione.

L'**azione tossicologica** consiste nell'alterazione funzionale di uno specifico recettore provocata da una sostanza biologicamente attiva.

# Tossicodinamica e relazione dose-risposta /2

Si realizzano **curve dose-risposta**:

- **valore soglia** = dose più elevata di una sostanza che può essere somministrata o a cui si può essere esposti senza effetti negativi
- **NOEL** (*No Observable Effects Level*) = livello più alto di esposizione a una sostanza a cui non si registrano effetti avversi o non avversi.



# Tossicodinamica e relazione dose-risposta /3

Si definiscono **citotossici** gli effetti dei composti chimici che portano ad alterazioni delle funzioni cellulari al di fuori di quelle che costituiscono la normale variabilità fisiologica.

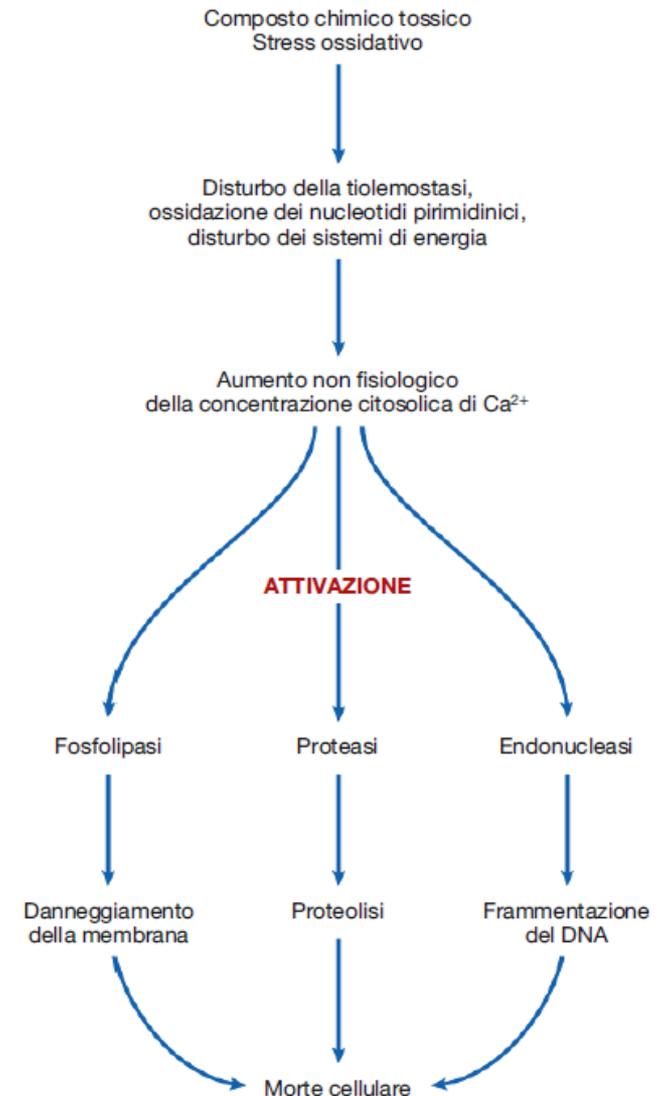
Si possono avere **effetti locali** (relativamente circoscritti) oppure **effetti sistemici**, che coinvolgono l'intero organismo e si manifestano in organi bersaglio anche lontani dal punto di assorbimento.

Se il danno è irreversibile causa la morte cellulare, altrimenti si può avere una sorta di temporaneo **stato stazionario** o *steady state* delle vie metaboliche interessate dal danno (manifestazioni: atrofia/ ipertrofia, ipoplasia/iperplasia, accumulo di trigliceridi negli epatociti).

# Tossicodinamica e relazione dose-risposta /4

Gli effetti delle sostanze tossiche dipendono dai **siti di attacco**, ovvero i siti su cui esse agiscono:

- **Membrane cellulari**
- **Sistemi redox**
- **Sintesi di ATP**
- **Sintesi di macromolecole**
- **Omeostasi del calcio**

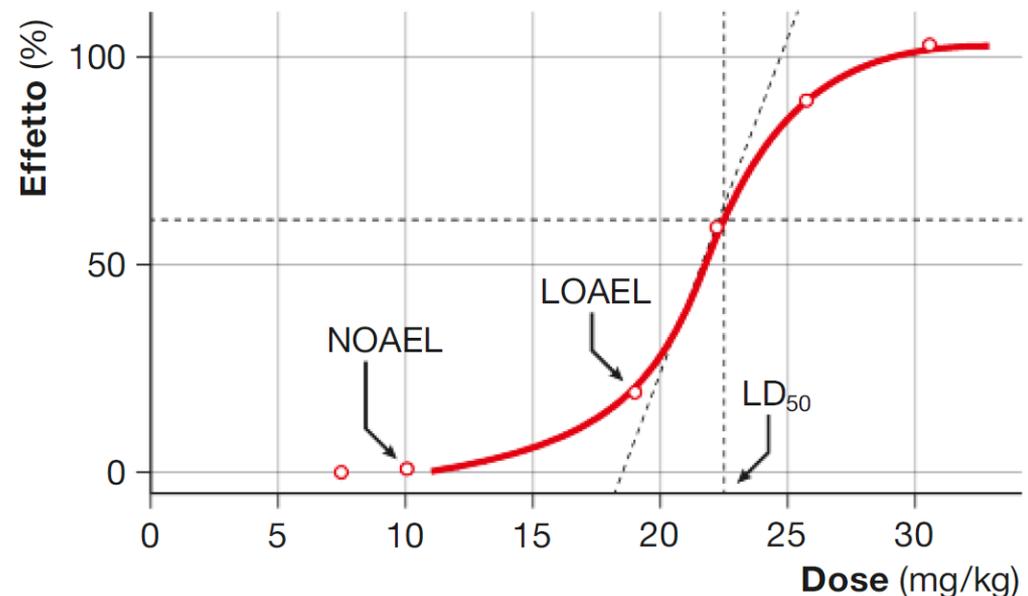


# Parametri tossicologici per la valutazione del rischio

**NOAEL** (*No Observable Adverse Effects Level*): dose più elevata di una sostanza che può essere somministrata senza che si apprezzino evidenti effetti negativi

**LOAEL** (*Low Observable Adverse Effects Level*): livello più basso di esposizione cui si registrano effetti avversi

**LD<sub>50</sub>** (*lethal dose*): dose della sostanza in grado di uccidere il 50% degli animali a cui è stata somministrata



# Il processo di cancerogenesi chimica

La **cancerogenesi chimica** è un processo per cui fattori di rischio cancerogenetico di tipo chimico provocano la proliferazione incontrollata e disordinata di tessuti neoplastici.

I **tumori** si formano per danni nei meccanismi di regolazione e controllo della crescita cellulare. I fenomeni di **apoptosi** (morte cellulare programmata) agiscono cercando di sopprimere le cellule anormali.

I tumori possono essere:

- **benigni:** formano masse compatte
- **maligni:** mostrano uno sviluppo aggressivo, invadono gli spazi intercellulari dei tessuti circostanti, formano metastasi (cellule si staccano dalla massa tumorale e, attraverso la circolazione sanguigna e linfatica, raggiungono sedi lontane)

# Il modello a più stadi della cancerogenesi chimica /1

Nella **cancerogenesi** sono coinvolti due gruppi di geni:

- **Proto-oncogeni:** svolgono funzioni essenziali; in caso di un'espressione difettosa portano a errori nella trasmissione dei segnali di regolazione del ciclo cellulare
- **Geni oncosoppressori:** codificano per proteine che impediscono la proliferazione incontrollata delle cellule; se subiscono mutazioni non possono più esercitare le loro funzioni regolatrici.  
Esempio: TP53, che codifica per la sintesi della proteina p53 e controlla il ciclo cellulare e l'apoptosi

# Il modello a più stadi della cancerogenesi chimica /2

## Modello a più stadi della cancerogenesi chimica:

- 1. Iniziazione:** avviene il contatto dell'agente cancerogeno con il DNA, che subisce mutazioni
- 2. Promozione:** si formano popolazioni di cloni cellulari per l'espansione proliferativa di cellule preneoplastiche che portano un'identica mutazione
- 3. Progressione:** danni genotossici che portano a ulteriori mutazioni nelle cellule colpite e all'attivazione dei proto-oncogeni.

Nelle fasi 1 e 2 si passa da una cellula normale a tumore benigno; nella 3 si ha la conversione a tumore maligno, per somma di mutazioni accumulate.

# I test di tossicità *in vivo* e di cancerogenesi

**Test di tossicità acuta:** il valore di LD<sub>50</sub> (dose letale) si ricava dal numero di animali morti.

**Test di tossicità subacuta (2-4 settimane) e subcronica (fino 90 giorni):** il dosaggio è compreso fra la dose non efficace e la massima dose tollerata; gli animali sopravvivono ma provoca danni agli organi.

**Test di tossicità cronica (circa 2 anni):** le dose sono analoghe al caso precedente, ma viene prolungato per circa 1/3 della vita dei topi e ratti, eseguendo analisi ogni 6 mesi.

**Test di cancerogenesi cronici o a breve termine:** riprendono le procedure della prova di tossicità, con la differenza che la sostanza-test è indagata per l'induzione di tumori.

# I test di genotossicità *in vitro* e i test di mutagenesi *in vivo*

I **test di genotossicità *in vitro*** indagano l'azione tossica di una sostanza sul materiale genetico delle cellule: non ci si focalizza solo su DNA e cromosomi, ma anche su altre strutture implicate nella corretta trasmissione delle informazioni genetiche (es. le proteine del fuso mitotico).

Possono essere condotti **test di mutazione genica su batteri**, es. test di Ames o test di riparazione del DNA, oppure **test su cellule animali**.

I **test di mutagenesi *in vivo*** possono riguardare:

- **cellule somatiche:** effetto cancerogeno
- **cellule germinali:** danno genetico trasmissibile alla discendenza

# Il monitoraggio biologico

Nel **sangue** si rintracciano tutte le sostanze assorbite con i polmoni, l'apparato gastroenterico, la cute e tutti i prodotti del metabolismo.

Di base le analisi sono svolte su sangue intero, ma alcune sostanze lipofile (es. DDT) vengono ricercati nel siero, in particolare nella sua componente lipidica.

Nelle **urine** la concentrazione delle sostanze tossiche appare inferiore rispetto al sangue, ma è maggiore quella dei prodotti del loro metabolismo.