

Corso di Laurea in Biologia
Laboratorio di
Igiene Ambientale e
Tossicologia Generale



Toxicology

Andrea Elio SPRIO

Dip. Scienze e Cliniche e Biologiche
Reg. Gonzole 10 – Orbassano
Tel 011 670 5446
e-mail: andrea.sprio@unito.it

TESTI CONSIGLIATI

- **CASARETT & DOULL'S**
 - «ELEMENTI DI TOSSICOLOGIA » CASA EDITRICE AMBROSIANA
- **LU F**
 - “ELEMENTI DI TOSSICOLOGIA” EDIZIONI MEDICHE SCIENTIFICHE INTERNAZIONALI
- **GALLI C.L, MARINOVICH M., RESTANI P**
 - “TOSSICOLOGIA SPERIMENTALE” ORGANIZZAZIONE EDITORIALE MEDICO FARMACEUTICA
- **CANTELLI FORTI**
 - “TOSSICOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE” U.T.E.T.
- **GREIM & DEML E**
 - “TOSSICOLOGIA” ZANICHELLI ED

STORIA

- ETÀ ANTICA

- papiro di Eber (1500 aC) → Cicuta, Aconito, Oppio, Pb, Cu, Sb
- Libro di Giobbe (1400 aC) → veleni per le frecce (Giobbe 6:4)
- Ippocrate (400 aC) → veleni e principi di tossicologia clinica
- Dioscoride (40-90 dC) → classificazione dei veleni (De materia medica)

- MEDIOEVO

- Maimonide (1135-1204) → terapia degli avvelenamenti da insetti, serpenti e cani idrofobi (Libro dei veleni e degli antidoti)

- RINASCIMENTO

- Ellemborg (1480) → esposizione tossica a Hg e Pb in oreficeria

Paracelso (1493-1541)

[*Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim*]

*Omnia venenum sunt:
nec sine veneno quicquam existit.
Dosis sola facit, ut venenum non fit*

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



- LA SPERIMENTAZIONE È INDISPENSABILE
- Distinzione tra proprietà terapeutiche e tossiche
- Tali proprietà sono talvolta indistinguibili eccetto che per la dose
- Si dovrebbe accertare grado di specificità ed effetti terapeutici o tossici

Caterina de' Medici

(1519-1589)

Nata a Firenze, fu Reggente di Francia,
con la scusa di dare cibo a poveri e malati, sperimentò
diverse miscele tossiche annotando:

- inizio dell'azione,
- potenza,
- specificità e sito d'azione e
- segni clinici e sintomi



- 1700

- Bernardino Ramazzini (1700) → Trattato sulle malattie dei lavoratori (Tossicologia industriale)
- Percival Pott (1775) → descrisse il ruolo della fuliggine nel cancro dello scroto (cancerogenicità da IPA) negli spazzacamini

- 1800

- Magendie (1783-1885) → Scopri l'emetina e studiò gli effetti della stricnina e del cianuro. Padre della farmacologia sperimentale.
- Orfila (1787-1853) → scrisse *Traite des Poisons*, padre della moderna tossicologia
- Bernard (1813-1878) → studiò gli effetti del monossido di carbonio e del curaro

• 1900

- Lewin (1850-1929) → studiò e classificò le piante allucinogene, gli alcoli e altre sostanze psicoattive
- Upton Sinclair (1878-1968) → Pubblicò *La giungla* nel 1905. Descrisse le condizioni malsane dei lavoratori dediti al confezionamento delle carni a Chicago.
- Harvey Washington Wiley (1844-1930) → *Pure Food and Drugs Act* (1906) Vieta la produzione o il commercio di alimenti, farmaci e liquori adulterati.
- Clausola di Delaney (1958) → ogni sostanza chimica che si fosse rivelata cancerogena negli animali o nell'uomo non può essere utilizzata come additivo alimentare
- Anni 1960 → talidomide

VALUTARE SCIENTIFICAMENTE IN TERMINI QUANTITATIVI E QUALITATIVI
LA PROBABILITÀ, LA FREQUENZA E LA COMPLESSITÀ DEGLI EFFETTI
TOSSICI CAUSATI DALLE SOSTANZE CHIMICHE E DAGLI AGENTI FISICI IN
RELAZIONE ALLE REALI CONDIZIONI DI ESPOSIZIONE AI FINI DI **STIMARE**
IL RISCHIO PER L'UOMO E PER L'AMBIENTE E DI DEFINIRE LE ADEGUATE
MISURE RESTRITTIVE E DI PREVENZIONE

SCOPI DELLA TOSSICOLOGIA

- Descrittivo:
 - Individuare e descrivere qualitativamente l'effetto tossico ed il meccanismo d'azione di composti chimici (stima qualitativa della pericolosità).
 - Valutare l'insorgenza di danni alla salute a determinate esposizioni (stima quantitativa del rischio)
- Normativo:
 - Regolamentazione della diffusione di una sostanza chimica, il cui impiego possa rappresentare un potenziale danno per l'uomo o per l'ecosistema.

Scienza che studia
la natura ed il
meccanismo
degli effetti tossici
indotti da sostanze
chimiche o agenti
fisici sugli organismi
viventi e sui sistemi
biologici in genere

1° - Agenti chimici usati :

- a) in medicina (farmaci)
- b) nell'industria alimentare (additivi alimentari)
- c) veterinaria (farmaci)
- d) in agricoltura (pesticidi fertilizzanti)
- e) nell'industria chimica

2° - Metalli

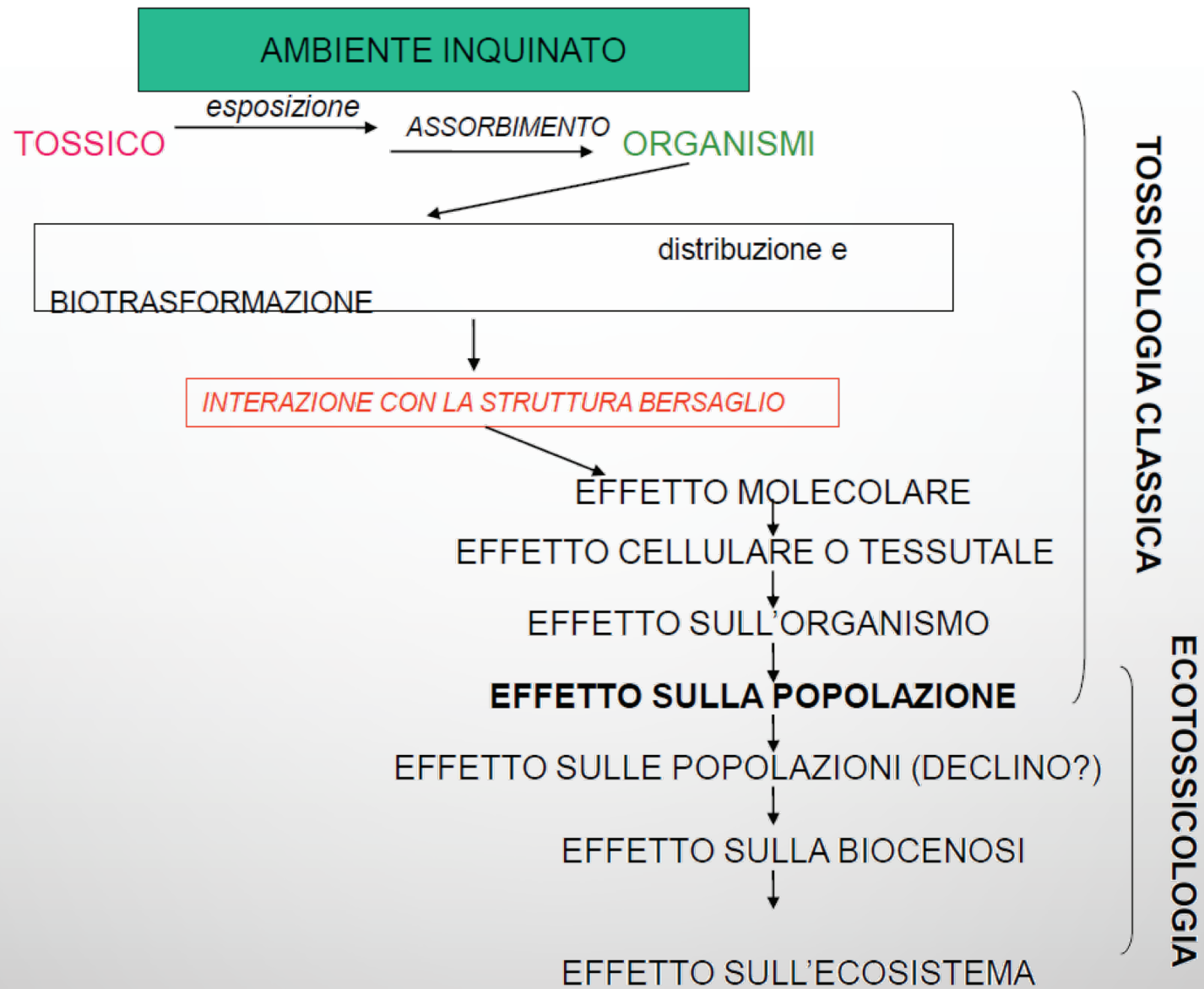
3° - Prodotti petroliferi

4° - Tossine naturali :

- a) vegetali
- b) animali
- c) fungine

5° - Radiazioni eccitanti e ionizzanti

6° - Inquinanti



AREE DI SPECIALIZZAZIONE DELLA TOSSICOLOGIA

- **TOSSICOLOGIA CLINICA**

- VALUTA LA TOSSICITÀ DI AGENTI CHIMICI USATI A SCOPO TERAPEUTICO, DIAGNOSTICO E PREVENTIVO.

- **TOSSICOLOGIA INDUSTRIALE**

- VALUTA LA TOSSICITÀ DI AGENTI CHIMICI UTILIZZATI NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE, ADDITIVI, COLORANTI, CONSERVANTI, ANTIOSSIDANTI, OPPURE NELL'INDUSTRIA CHIMICA COME SOLVENTI, COMPOSTI INTERMEDI E FINALI DI PROCESSI PRODUTTIVI.

- **TOSSICOLOGIA VETERINARIA**

- VALUTA LA TOSSICITÀ DI AGENTI CHIMICI UTILIZZATI A SCOPO TERAPEUTICO O PER MIGLIORARE LA RESA E LA QUALITÀ DELLE CARNI

- **TOSSICOLOGIA AGRARIA**

- VALUTA LA TOSSICITÀ DI AGENTI CHIMICI UTILIZZATI COME PESTICIDI, FERTILIZZANTI, REGOLATORI DELLA CRESCITA.

- **TOSSICOLOGIA AMBIENTALE**

- VALUTA LA TOSSICITÀ DI INQUINANTI PRESENTI NELL'AMBIENTE SUGLI ORGANISMI VIVENTI (UOMO, ANIMALI, VEGETALI)

- **ECOTOSSICOLOGIA**

- VALUTA L'IMPATTO DI SOSTANZE TOSSICHE SU DI UNA POPOLAZIONE ALL'INTERNO DI UN ECOSISTEMA

- **TOSSICOLOGIA FORENSE**

- VALUTA GLI ASPETTI MEDICO LEGALI LEGATI ALLA TOSSICITÀ DI AGENTI CHIMICI

STIMA DEL RISCHIO

Identificazione :

- a) della dose o concentrazione priva di effetti (**NOEL** o **NOEC**)
- b) della dose giornaliera assumibile (**Acceptable Daily Intake**)
- c) della concentrazione massima accettabile (**Threshold Limit Value**)
- d) della dose virtualmente sicura (**Virtual Safe Dose**)

Valori di riferimento

Valutazione dei livelli di Esposizione

Valutazione del rischio
potenziale

Quantificazione delle probabilità di
produrre danno in determinate specifiche
condizioni

**Tutto è potenzialmente velenoso:
la dose fa la differenza**

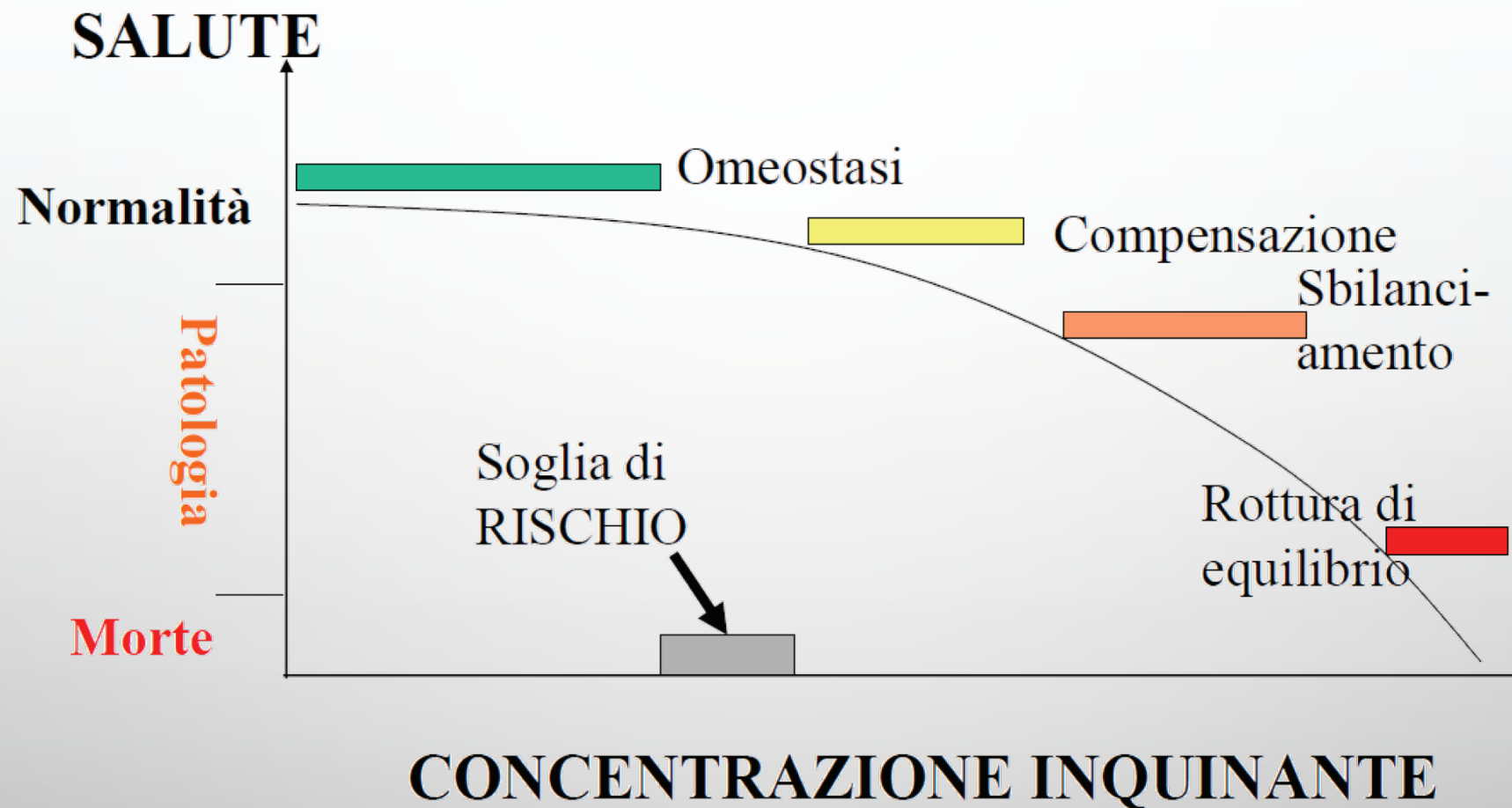


TOSSICITÀ= ROTTURA DI EQUILIBRI BIOLOGICI

**PER CAPIRE LA TOSSICITA DI UNA MOLECOLA O DI
UN ELEMENTO BISOGNA CONOSCERE :**

- 1. LA REATTIVITÀ CON STRUTTURE E SISTEMI BIOLOGICI.***
- 2. SE TALE REATTIVITA' SUPERA I MECCANISMI OMEOSTATICI
DEL SISTEMA O DELLA STRUTTURA BIOLOGICA CON CUI
VIENE A CONTATTO.***

Rapporto Salute / Inquinamento



SALUTE

Normalità

Patologia

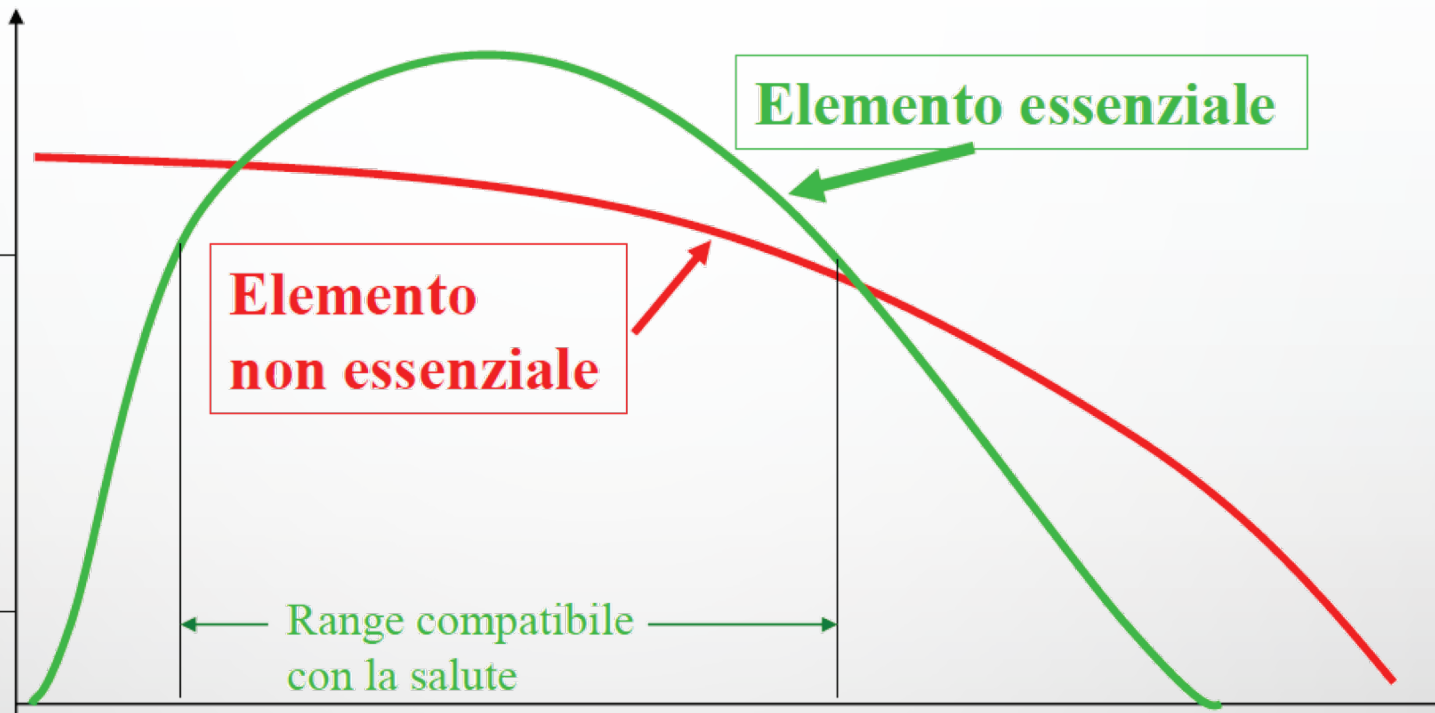
Morte

Elemento essenziale

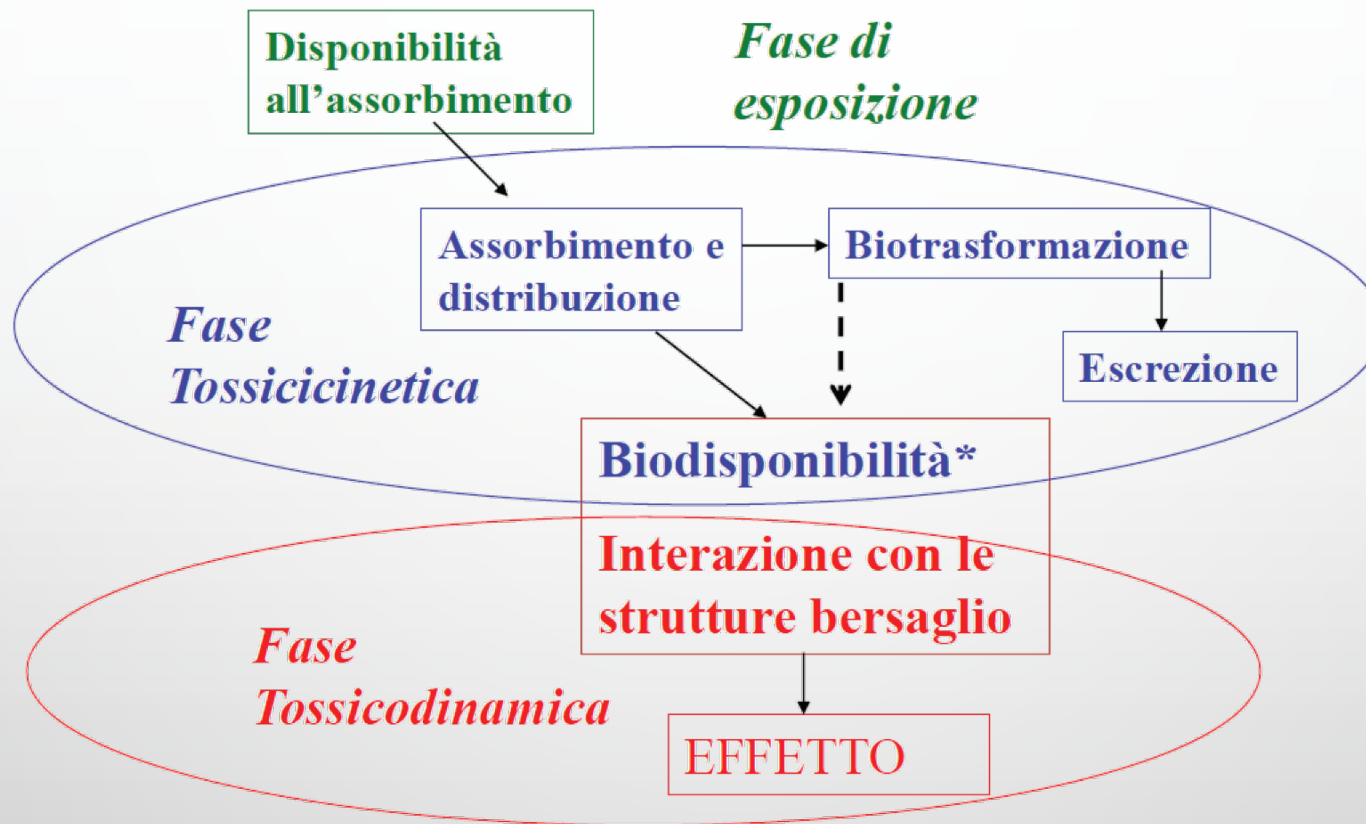
Elemento non essenziale

Range compatibile con la salute

CONCENTRAZIONE INQUINANTE



Tossicocinetica e Tossicodinamica



* Biodisponibilità= concentrazione in forma attiva in grado di interagire con le strutture bersaglio

**UNA SOSTANZA TOSSICA PER UN ORGANISMO È
INNOCUA SE NON È DIPONIBILE PER L'ASSORBIMENTO**

Fase di Esposizione

Disponibilità e potenzialità d'assorbimento

La disponibilità all'assorbimento di una sostanza dipende da:

- La sua forma chimico-fisica
- Le caratteristiche della matrice ambientale in cui si trova dispersa
- Le caratteristiche fisiologiche, morfologiche e patologiche dell'organismo con cui viene a contatto
- Le condizioni ambientali

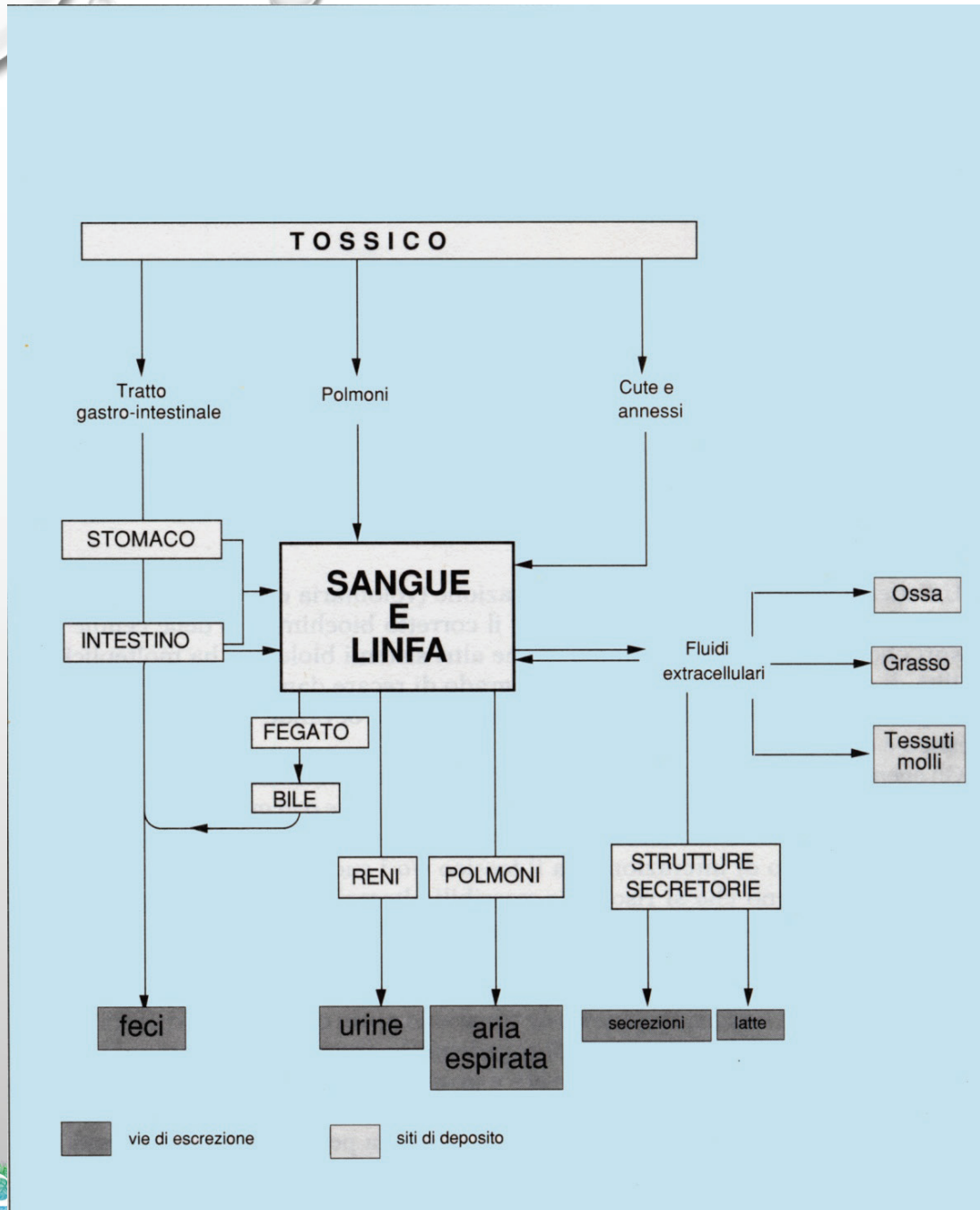
- **dosi elevate, tempo breve, fascia di popolazione ridotta**
 - **avvelenamento acuto - aspetti prevalentemente clinici**
- **dosi ridotte (PPM - mg/kg), tempo intermedio, fascia di popolazione più ampia**
 - **intossicazioni in ambito lavorativo - aspetti di prevenzione su base epidemiologica**
- **dosi molto basse (PPB - $\mu\text{g/kg}$ o PPT - ng/kg), tempi di esposizione molto lunghi, fascia di popolazione molto ampia**
 - **intossicazioni ambientali - aspetti di prevenzione su tutta la popolazione**

CARATTERISTICHE DELL'EVENTO TOSSICO

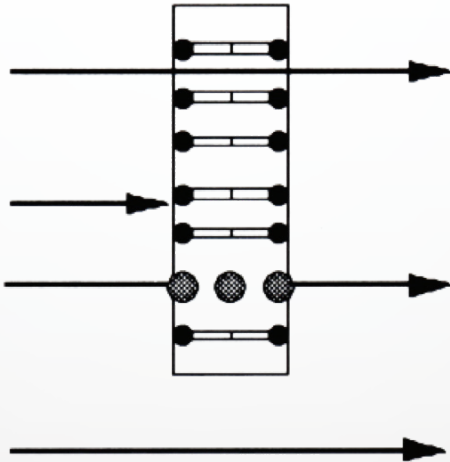
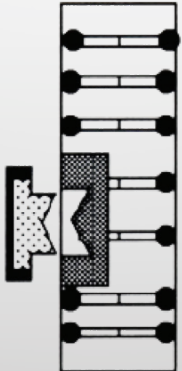
- **L'EVENTO TOSSICO È CONDIZIONATO DALLE SEGUENTI VARIABILI FONDAMENTALI:**
 - **INTERAZIONE DELLO XENOBIOTICO CON SPECIFICI SITI BERSAGLIO**
 - **CONCENTRAZIONE ADEGUATA ALL'INTERNO DELL'ORGANISMO (BIODISPONIBILITÀ)**
 - **TEMPO DI CONTATTO**
 - **AMPIEZZA DELLA POPOLAZIONE INTERESSATA**

TOSSICO- CINETICA

Assorbimento
Distribuzione
Metabolismo
Eliminazione

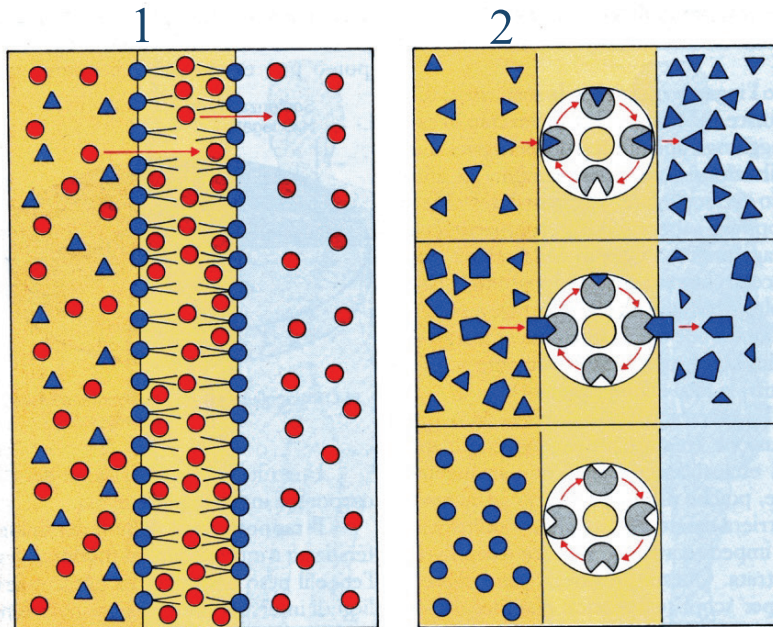


MECCANISMI di ASSORBIMENTO

Modalità di passaggio	Membrana lipidica	Fattori determinanti
1 Per diffusione passiva attraverso la membrana lipofila		sufficiente lipofilia impossibile per composti ionizzati
2 Sostanze idrofile		Ionizzazione e/o idrofilia
3 Per pinocitosi		Solo per molecole non ionizzate
4 Per passaggio attraverso i pori della membrana		Diametro del poro <10 Å Peso molecolare <100 D
5 Per trasporto attivo		Suoi rendono necessari specifici trasportatori di membrana (carriers) Consumo di energia sotto forma di ATP

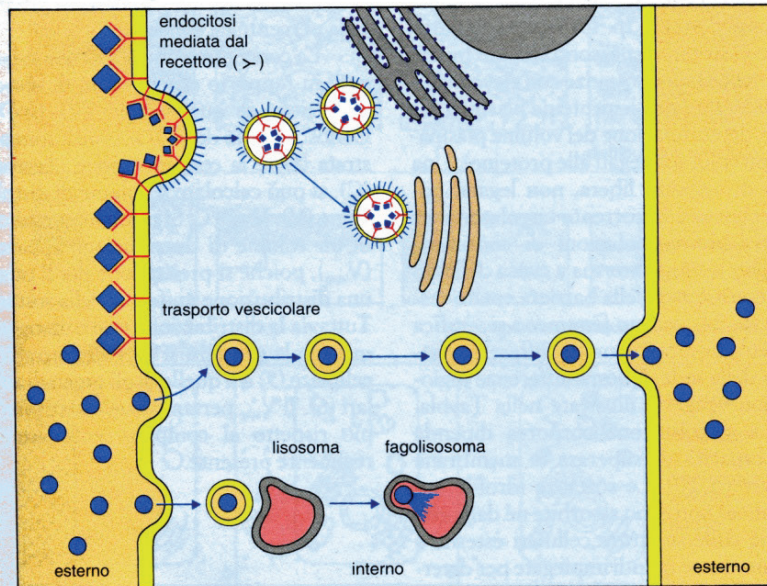
Meccanismi che regolano l'assorbimento di uno xenobiotico:

1. diffusione passiva
2. trasporto attivo
3. Assorbimento per vescicolazione



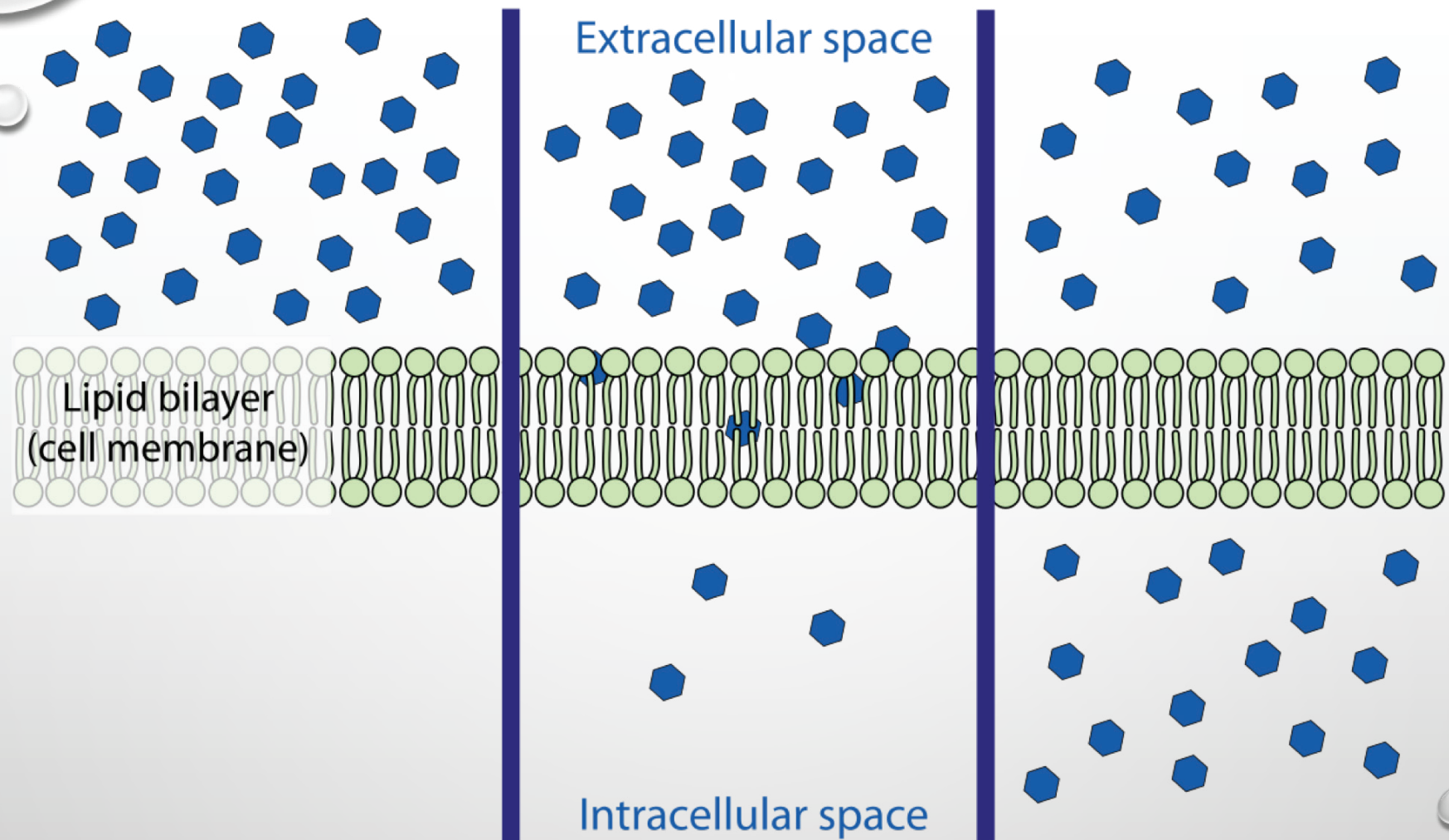
A. attraversamento di membrana: diffusione

B. attraversamento di membrana: trasporto

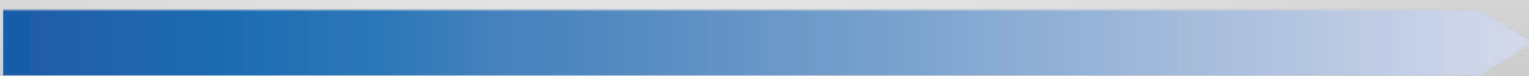


C. Attraversamento della membrana: assorbimento per vescicolazione ed eventuale espulsione

DIFFUSIONE PASSIVA



TIME



DIFFUSIONE PASSIVA

La diffusione degli xenobiotici segue la legge di Fick

$$\text{FLUSSO} = (c_1 - c_2) D \cdot A / d$$

(moli/sec)

c_1 e c_2 sono le concentrazioni del soluto (xenobiotico)
all'interno dei due compartimenti

D è il coefficiente di diffusione

A è l'area della membrana che separa i due compartimenti

d è lo spessore della membrana

INFLUENZA DEL PH SULL'ASSORBIMENTO DI UNO XENOBIOTICO IONIZZABILE

pH 4.4=pKa



Plasma
pH=7.4

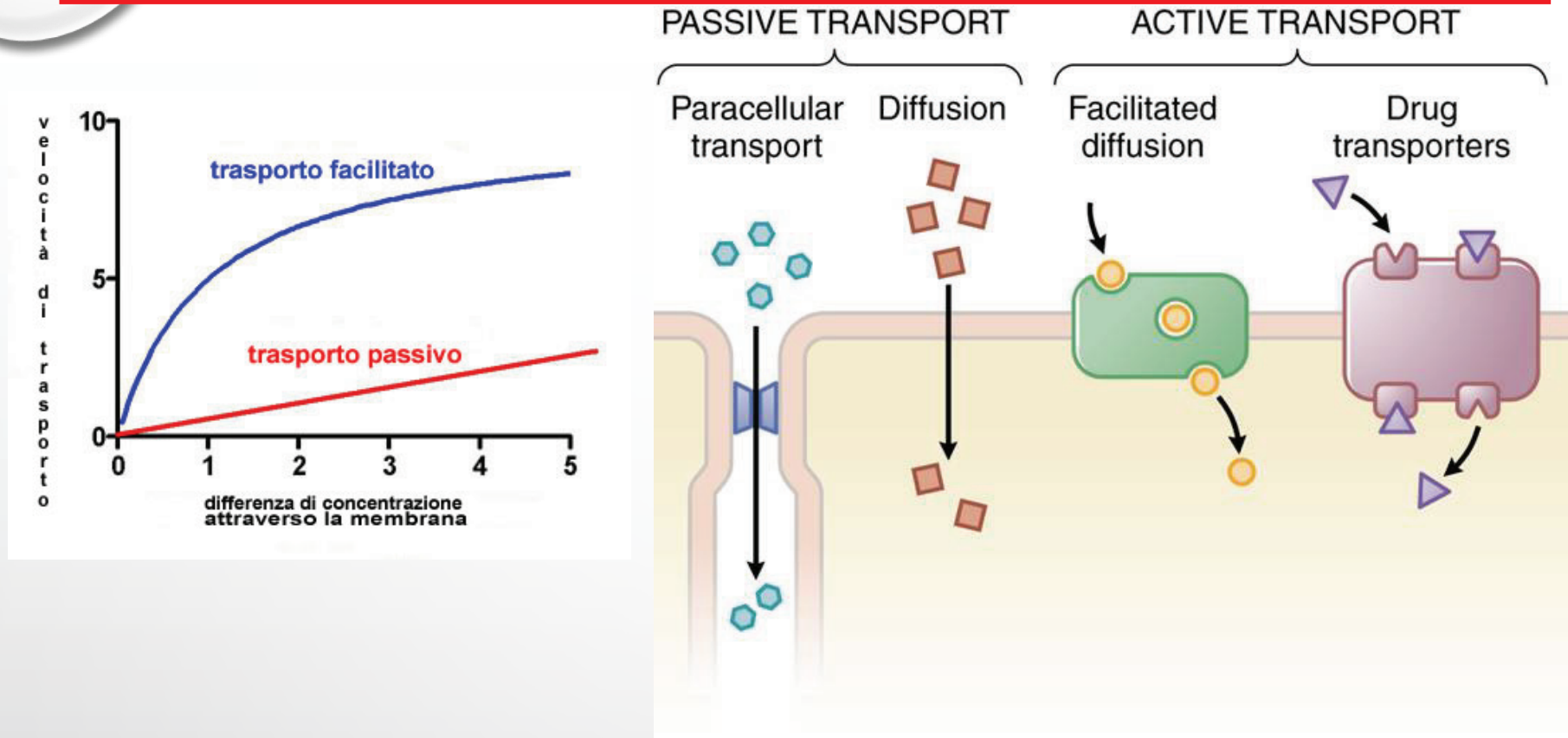


Barriera mucose

Lume gastrico
pH=1.4



Trasporto attivo: I Trasportatori di membrana

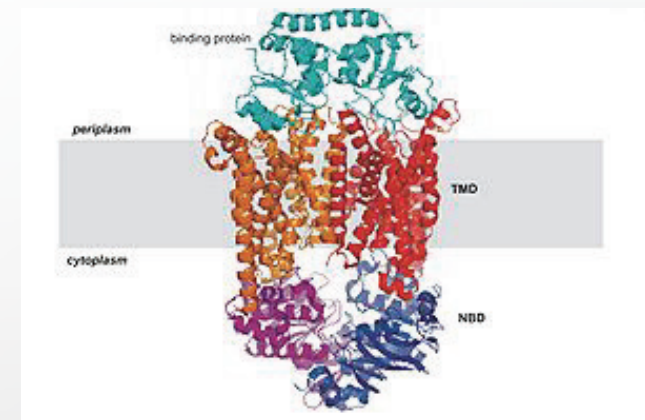
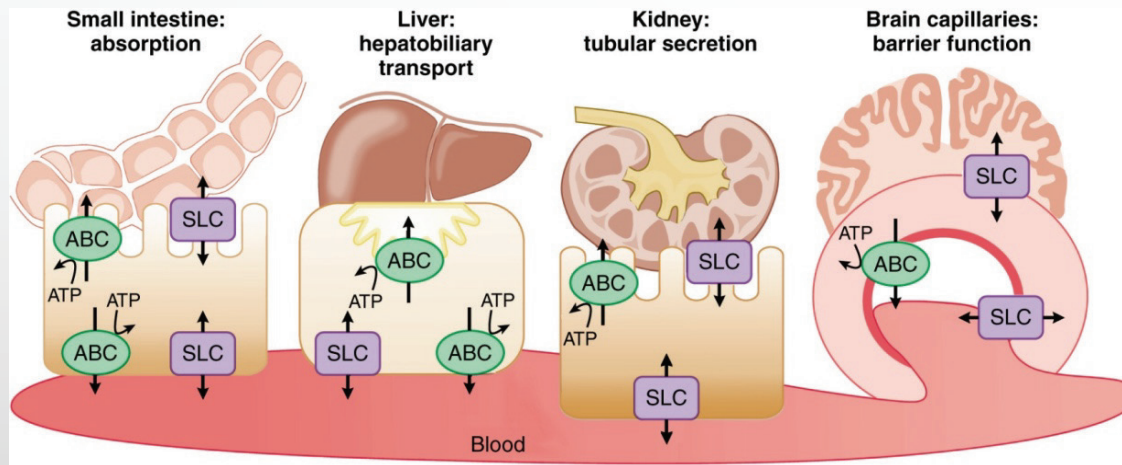


Regolano l'influsso di nutrienti e ioni e l'efflusso di sostanze di scarto del metabolismo, tossine e xenobiotici

La loro presenza può determinare il drug-targeting di un organo

Il Trasporto Vettoriale

Trasporto asimmetrico attraverso monolayer di cellule polarizzate

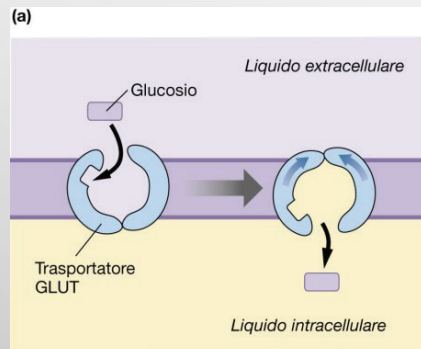
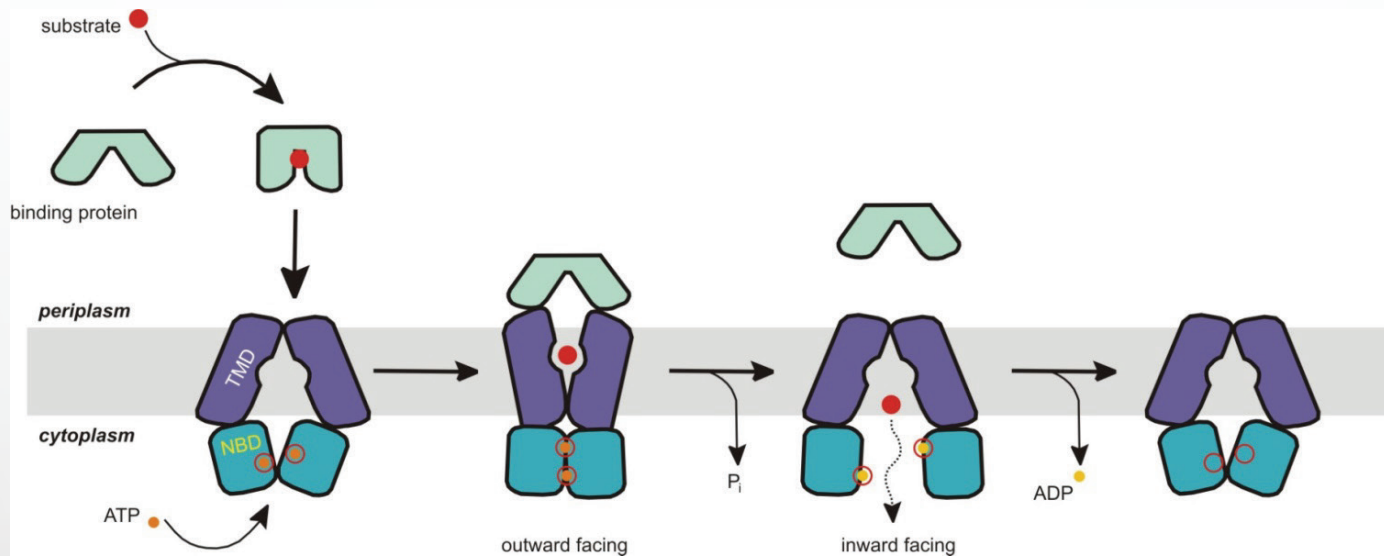


Struttura del ABC importer per la Vit.B₁₂

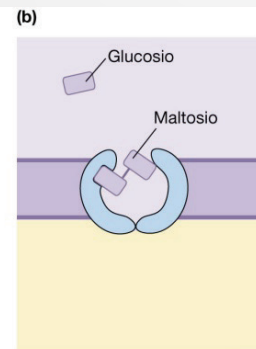
SCL=solute carriers

ABC=ATP binding cassette

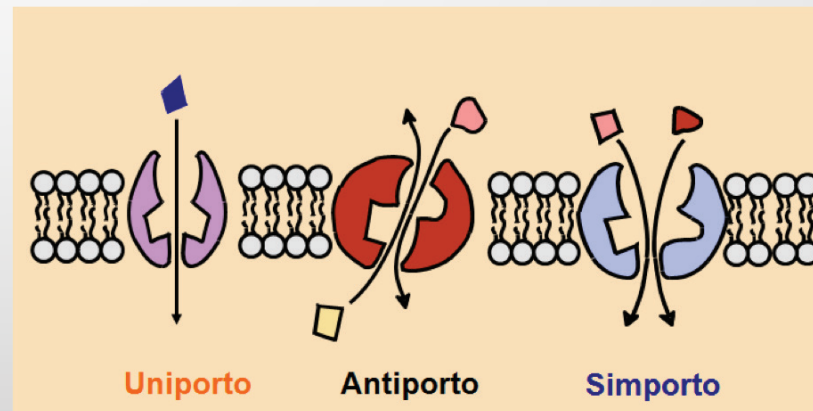
Meccanismo molecolare dei trasportatori ABC



Il trasportatore GLUT porta glucosio attraverso la membrana.



Il maltosio è un ibitore competitivo che si lega al trasportatore GLUT ma non viene trasportato attraverso la membrana.



PRINCIPALI ORGANI RESPONSABILI DELL'ASSORBIMENTO DI SOSTANZE TOSSICHE

APPARATO DIGERENTE

APPARATO RESPIRATORIO

APPARATO TEGUMENTARIO

Aspetti cito istologici dei siti di assorbimento

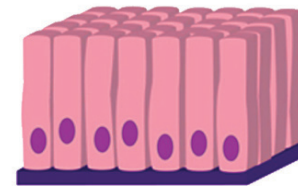
Epiteli di rivestimento



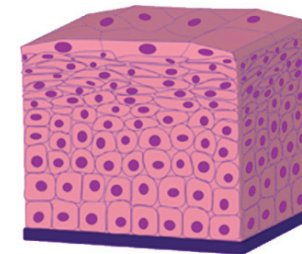
cubico semplice



pavimentoso semplice

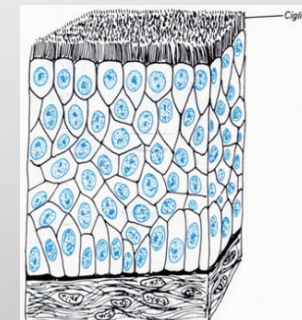


cilindrico semplice

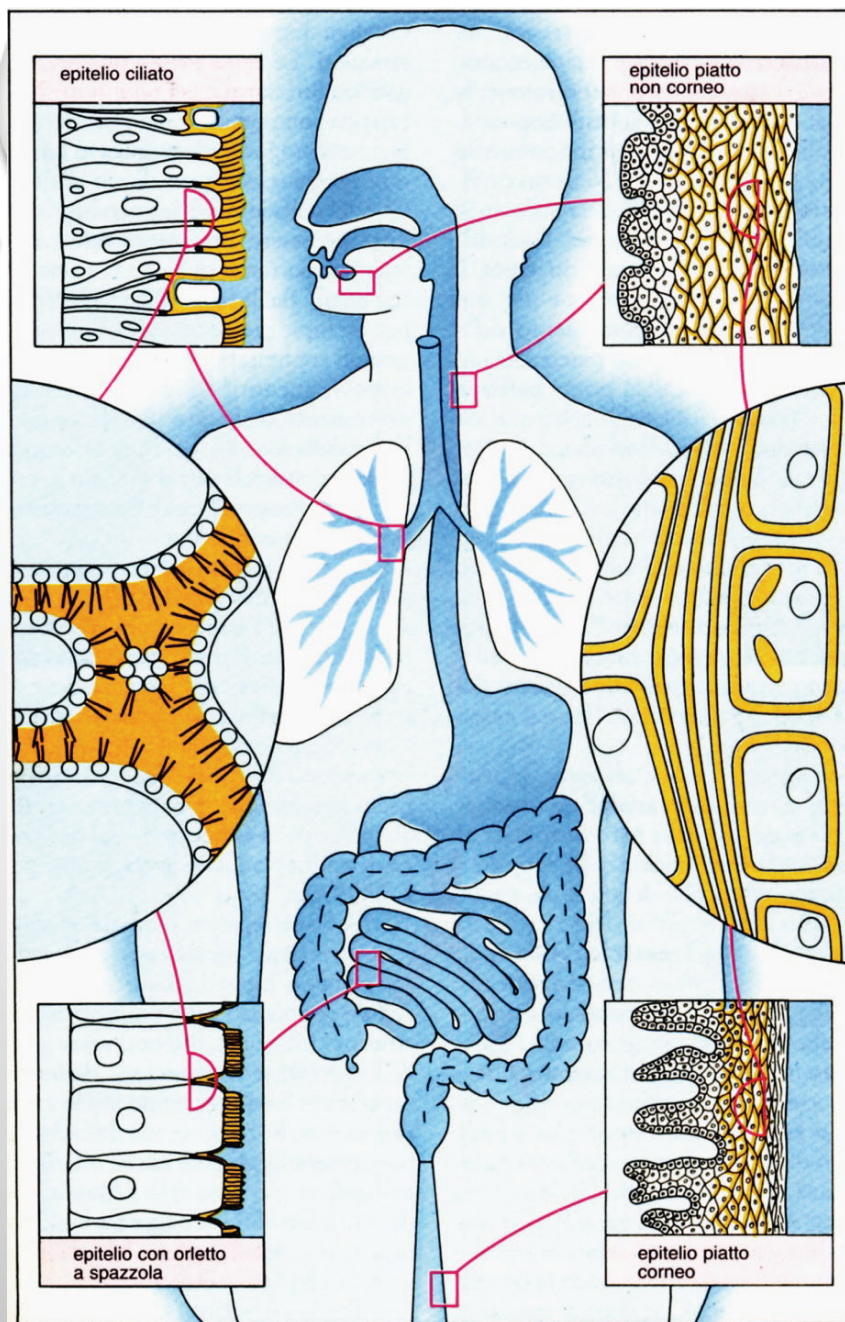


pavimentoso pluristratificato

Epitelio cilindrico pluristratificato cigliato



Epitelio cilindrico
pluristratificato cigliato

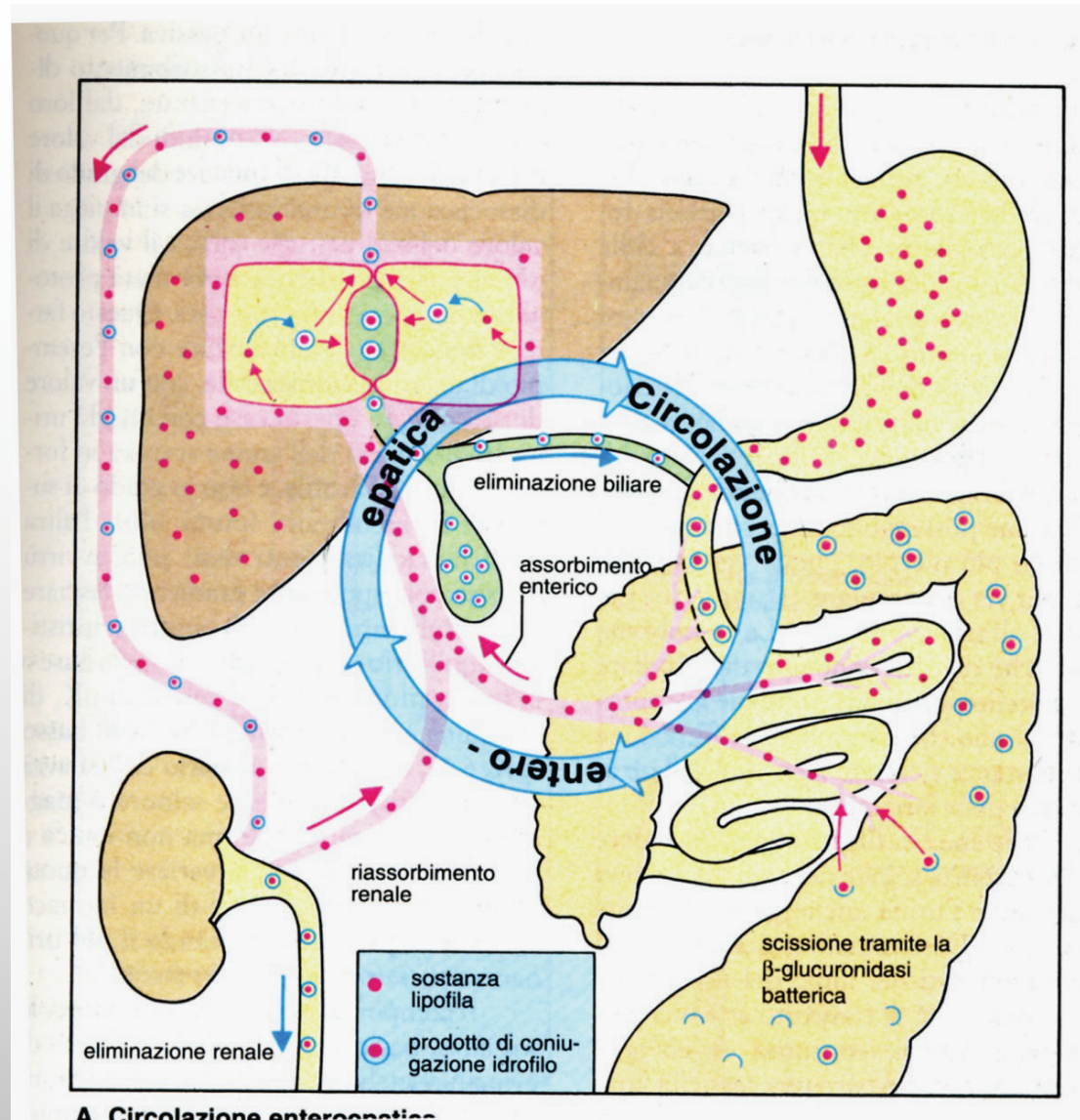


A. Barriere corporee esterne

APPARATO DIGERENTE

- **XENOBIOTICI POSSONO ESSERE ASSORBITI LUNGO TUTTO IL TRATTO GASTROINTESTINALE.**
- **ASSORBIMENTO PER DIFFUSIONE PASSIVA, PER TRASPORTO ATTIVO E PER ENDOCITOSI.**
- **POSSIBILI INTERFERENZE DA PARTE DELLA FLORA BATTERICA O DALLA PRESENZA DI ALIMENTI**

CIRCOLAZIONE ENTERO-EPATICA



APPARATO TEGUMENTARIO

0.1-0.2 mm

Circa 2 mm

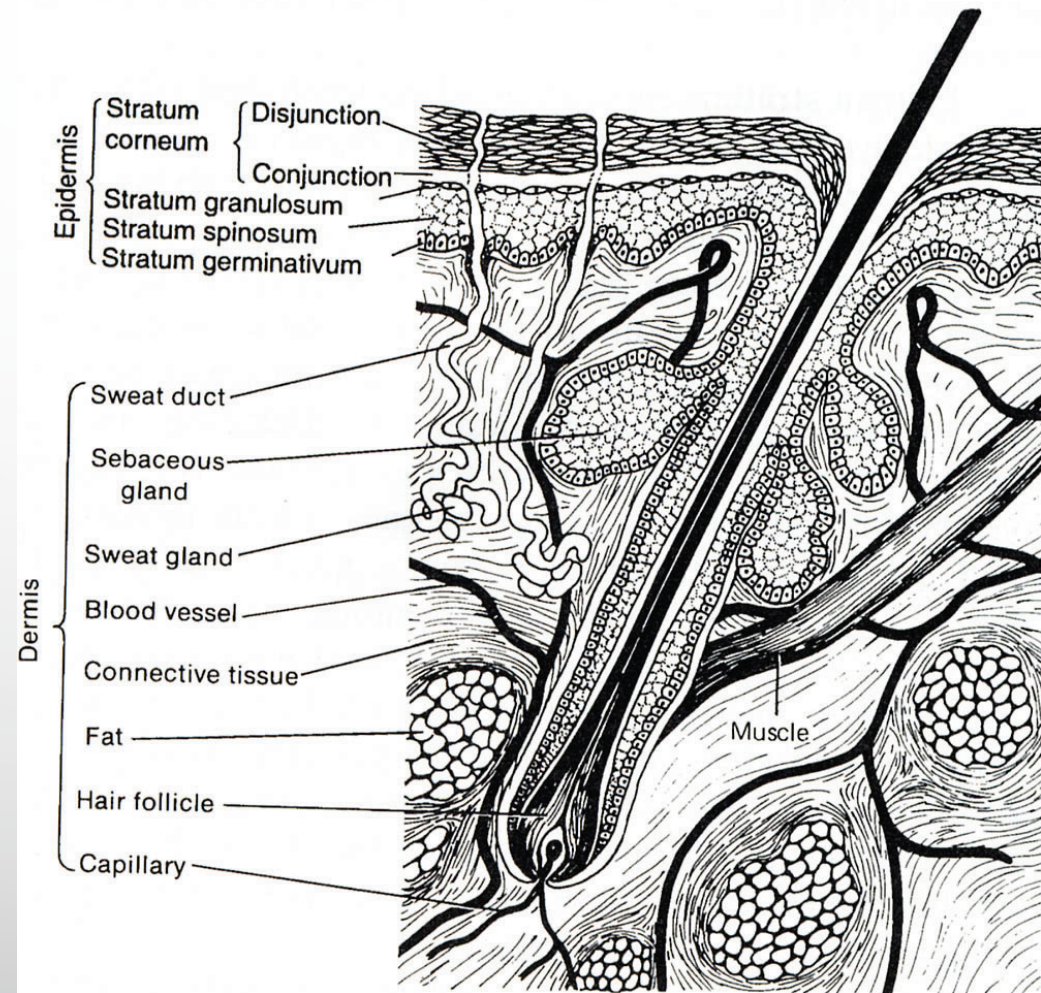


Figure 5-5. Diagram of a cross-section of human skin.

- Assorbimento prevalentemente per diffusione passiva.**
- Favorite le sostanze lipofile come fitofarmaci, solventi e gas nervini.**
- Lesioni allo strato epiteliale cheratinizzato dell'epidermide possono favorire l'assorbimento, questo in relazione soprattutto all'elevata vascolarizzazione degli strati del derma.**

APPARATO RESPIRATORIO

- **ASSORBIMENTO DI GAS E VAPORI**

- scarso assorbimento di molecole ionizzate
poiché sono poco volatili
- distanza di diffusione molto breve
- rapida rimozione da parte del circolo sanguigno

- **ASSORBIMENTO DI AREOSOL E PARTICELLE**

penetrazione nell'albero respiratorio di particelle con diametro compreso tra 0.1 e 10 μm

particelle inferiori ad 1 μm possono essere trattenute nel tratto tracheo bronchiale e inglobate dai fagociti

Caratteristiche dell'assorbimento polmonare di una sostanza volatile

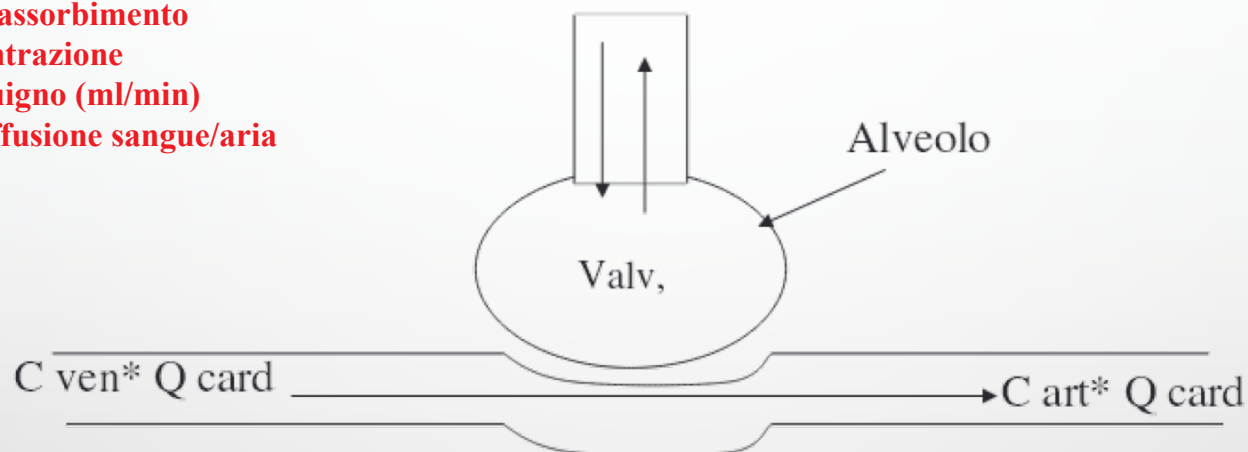
$$V_{\max \text{ ass}} = C_{\text{aria}} * Q_{\text{alv}} * \lambda * Q_{\text{card}}$$

V=velocità di assorbimento

C=concentrazione

Q=flusso sanguigno (ml/min)

λ =coefficiente di diffusione sangue/aria



Quando si è raggiunto un equilibrio con la concentrazione

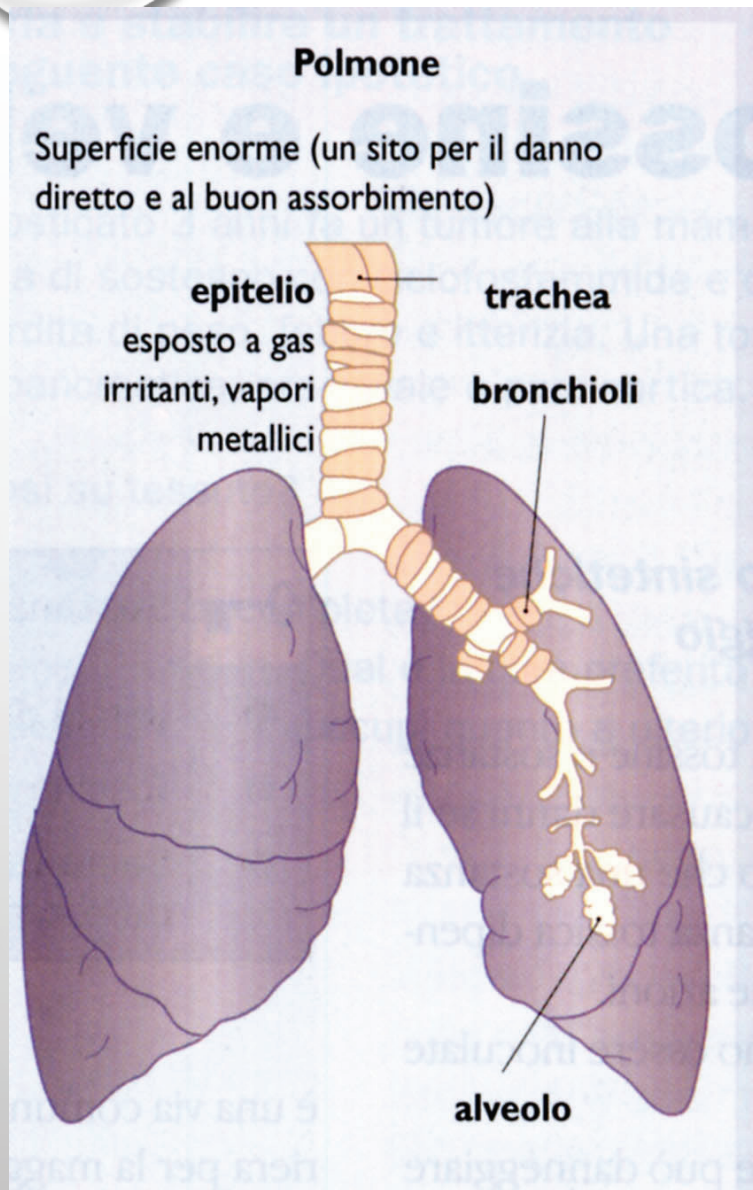
nell'ambiente si ha: $V_{\text{ass}} = Q_{\text{card}} (C_{\text{art}} - C_{\text{ven}})$

Modificato da J. G. Filser "la tossicocinetica" in "Tossicologia" Greim H. e Deml E., Ed Zanichelli

L'entità dell'assorbimento è proporzionale alla solubilità nei liquidi fisiologici a parità di pressione parziale.

La solubilità di un gas può essere misurato con λ (coefficiente di distribuzione Sangue/Aria)

<i>Sostanza</i>	<i>λ a 37° C</i>
Pentano	0,38
Esano	0,80
Eptano	1,90
Tricloroetano	8,00
1,1,1- Tricloroetano	3,30
Tricloroetilene	8,10
Benzene	6,40
Toluene	10,00
Stirene	48,00



Toxicology

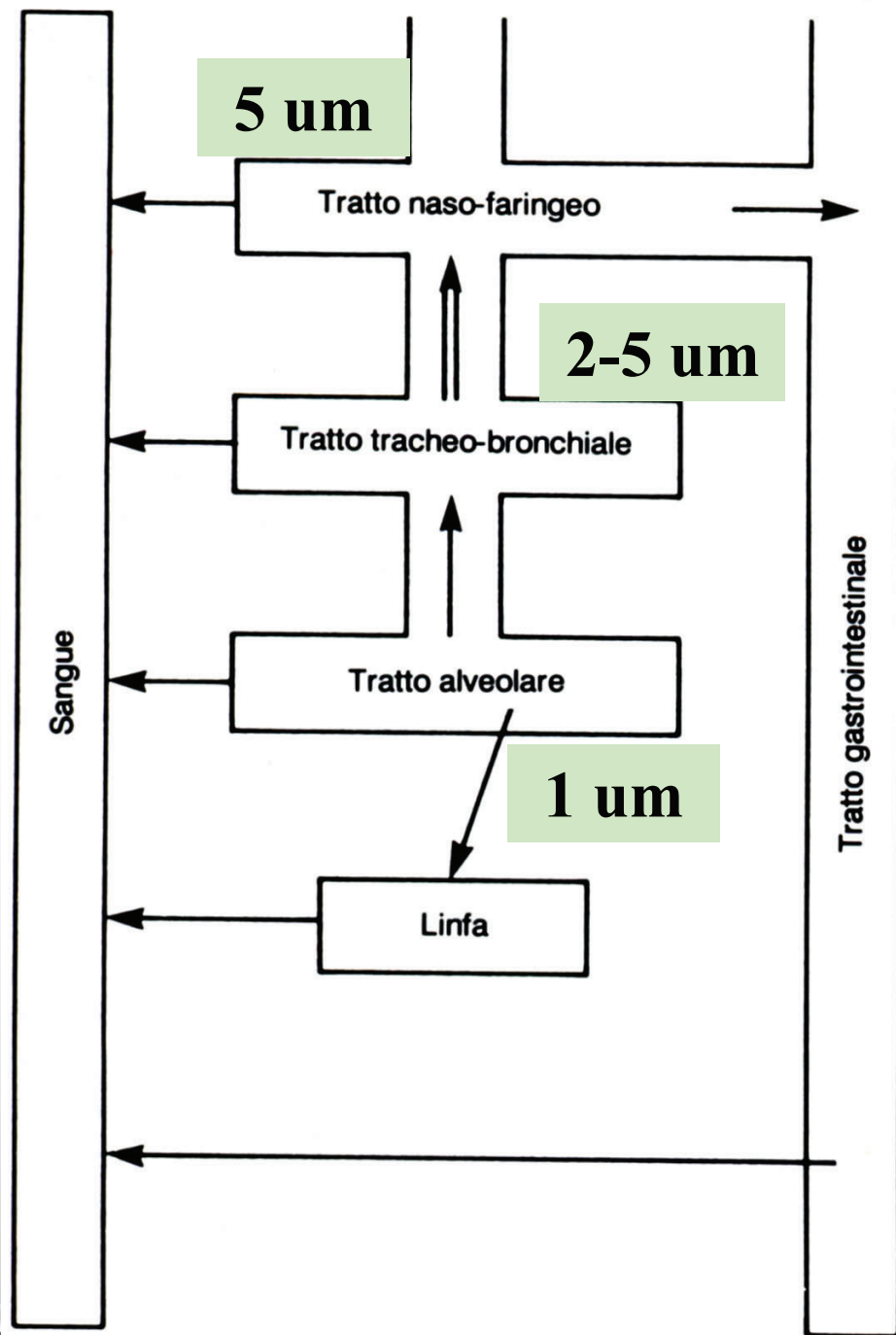


Figure 2.4 Diagramma schematico dell'assorbimento delle particelle inalate

VIE DI SOMMINISTRAZIONE IN USO NEI TEST DI TOSSICOLOGIA SPERIMENTALE

- **VIA GASTROENTERICA**

- GROSSE QUANTITÀ DI XENOBIOTICO, ASSORBIMENTO VARIABILE, SOSTANZE POCO SOLUBILI, EFFETTO DI PRIMO PASSAGGIO (FIRST PASS EFFECT).

- **VIA INTRAPERITONEALE**

- GROSSE QUANTITÀ DI XENOBIOTICO, ASSORBIMENTO RAPIDO E COSTANTE, EFFETTO DI PRIMO PASSAGGIO

- **INTRAMUSCOLARE E SOTTOCUTANEA**

- PICCOLE QUANTITÀ, ASSORBIMENTO LENTO, MANCANZA DI EFFETTO DI PRIMO PASSAGGIO

- **ENDOVENOSA**

- QUANTITÀ VARIABILI, SOSTANZE IDROFILE, MANCANZA DI ASSORBIMENTO E DI EFFETTO DI PRIMO PASSAGGIO