

# Perché i mammiferi non sono uricotelici?

- Rene dei mammiferi: rapporto massimo U/P per l'urea è  $>$  a quelli di ogni altro soluto e può sorpassare di molto il rapporto massimo U/P osmotico
- Es.: nell'uomo il rapporto massimo U/P osmotico è circa 4,2, per  $\text{Cl}^-$  è circa 3,5, mentre per l'urea è 170
- Roditori del deserto: concentrazioni urinarie urea tra 2,5 M e 5 M, pari a 70-140 g N/l

# Perché i mammiferi non sono uricotelici?

- I mammiferi riescono ad ottenere una concentrazione urinaria dell'urea molto  $>$  di quella osservata negli altri animali
- Roditori dei climi aridi rapporto urinario  $N/H_2O = 0 >$  uricotelici (acido urico in una miscela semifluida)
- Uccelli o rettili escrete sotto forma di particelle relativamente secche,  $N/H_2O >$  massimi raggiunti dai mammiferi

# Perché i mammiferi non sono uricotelici?

- Mammiferi sono rimasti ureotelici perché il complesso sistema di moltiplicazione controcorrente sviluppatosi nel loro rene li ha dotati di un potenziale rilevante di concentrazione per l'urea, che ha finito per attuare la pressione selettiva verso la condizione uricotelica
- I mammiferi non riuscirono a sviluppare per evoluzione le caratteristiche biochimiche e fisiologiche necessarie per diventare uricotelici
- Ingabbiati nella condizione ureotelica, avrebbero subito una forte pressione selettiva a evolvere una capacità eccezionale di concentrare l'urea

# *Gli adattamenti al caldo*

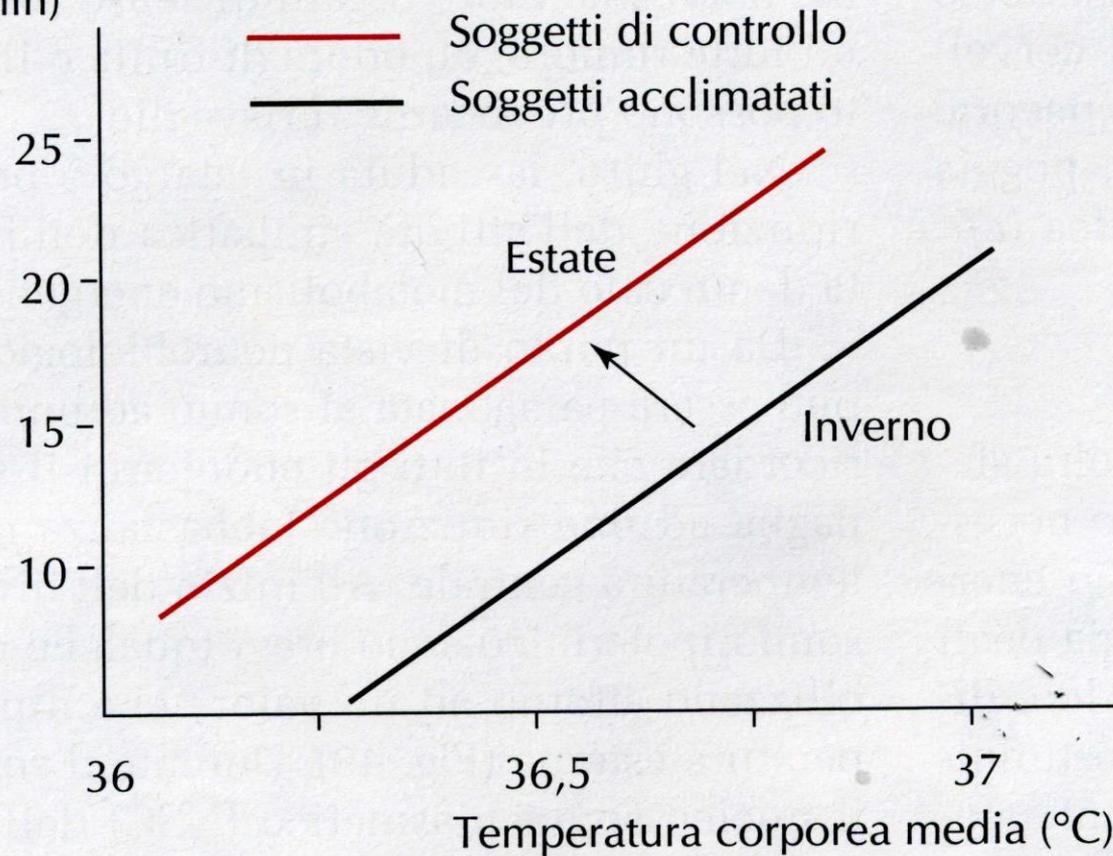
Nell'uomo, acclimatazione stagionale:

- ↑ produzione sudore, in quanto ↑ attività simpatica e fenomeno locale di ↓ della fatica
- ↓ soglia termica comparsa sudorazione ↑
- ↓ contenuto  $\text{Na}^+$  nel sudore, secrezione aldosterone

Individui permanentemente regioni tropicali:

- Frequenza emissione sudore ↑ - di quella degli abitanti regioni temperate
- ↑ capacità secretoria ghiandole sudoripare

Frequenza di sudorazione  
(espulsioni/min)



L'acclimatazione a medio e lungo termine al caldo.  
L'acclimatazione estiva osservata negli abitanti delle  
regioni temperate comporta un'attivazione della  
sudorazione a T centrali + basse

# Tossicologia

## Introduzione

Tossicologia:  
studio  
qualitativo e  
quantitativo  
degli effetti  
dei composti  
tossici



# Effetti e meccanismi d'azione

- Pericolosità di un composto: è necessario conoscere natura dell'effetto tossico e meccanismi d'azione
- Reversibilità o meno degli effetti causati dall'esposizione è decisiva per la valutazione del rischio
- Sostanze con effetti reversibili: non si verificano situazioni di rischio per esposizioni al di sotto della dose soglia
- Composti ad azione irreversibile: indipendentemente dalla entità di esposizione, rischio

# Le vie di esposizione, distribuzione ed eliminazione

- Una sostanza può essere assorbita dall'organismo attraverso l'alimentazione, l'aria o per contatto cutaneo
- L'entità e la velocità dell'assorbimento sono determinati dalle proprietà chimico-fisiche
- Effetto di primo passaggio: metabolismo nelle pareti intestinali e del fegato
- Con la biotrasformazione si possono formare prodotti meno o più pericolosi
- Anche reni, polmoni, pelle, trasformano le sostanze esogene

# Reversibilità e irreversibilità

- Per le sostanze che provocano danni reversibili è possibile fissare delle concentrazioni o dosi non pericolose
- Le cellule nervose morte non vengono rimpiazzate e il danno è permanente
- Azione mutagena, teratogena e cancerogena, sostanze genotossiche

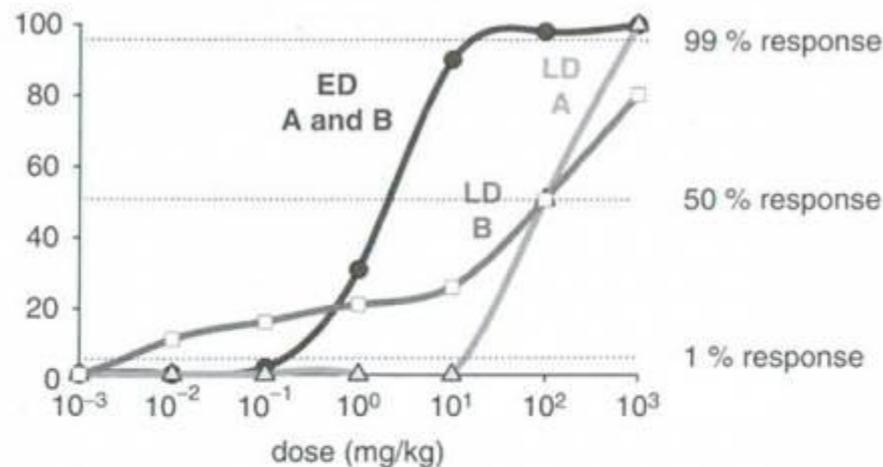
# Dosi e relazione dose-effetto

**Dose:** si esprime come quantità per kilogrammo di peso corporeo e per giorno.

**Dose bersaglio:** quantità di sostanza o di un suo metabolita per unità di tempo presente nel luogo d'azione.

**Relazione dose-effetto:** descrive l'intensità dell'effetto biologico di una sostanza in funzione della quantità a cui sono esposti gli animali di laboratorio o l'uomo.

**NOEL:** *no observable effect level*, dose subito al di sotto della soglia d'azione, dose priva di effetti osservabili.



**FIGURE 1.5** *The dose-response data serves to illustrate how the use of TI can provide misleading comparisons of the relative toxicities of substances.*

# Le classi di sostanze più importanti in tossicologia

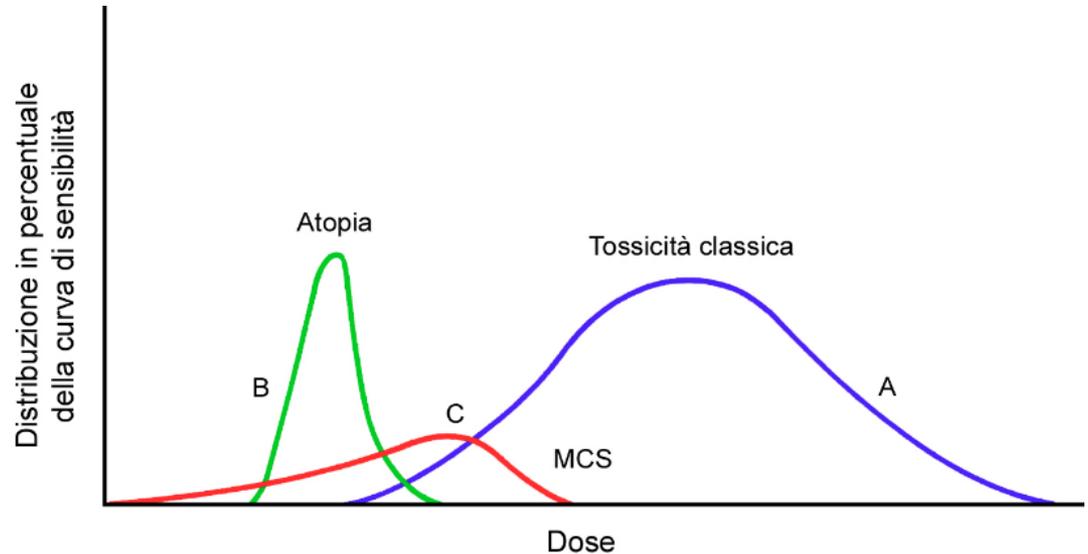
A seconda del loro utilizzo e della possibilità di esposizione per l'uomo: farmaci, additivi alimentari, pesticidi, prodotti chimici sintetici, sostanze impiegate nei luoghi di lavoro, inquinanti ambientali, sostanze naturali, detersivi domestici.

La sensibilizzazione è una reazione organica alle sostanze chimiche presenti nell'ambiente. Può diventare multipla (MCS) nel caso coinvolga nel suo processo più composti. Si pone e viene a definirsi nei confronti di fenomeni legati all'atopia e alla tossicità classica come riportato in figura.

Atopia: predisposizione genetica a sviluppare alcune reazioni anafilattiche, può avere una componente ereditaria, anche se il contatto con l'allergene deve avvenire prima che si sviluppi la reazione di ipersensibilità.

MCS: Sensibilità Chimica Multipla, sindrome acquisita immuno-tossica infiammatoria (istamina, mastociti) e allergica (non IgE mediata), intossicazione cronica, disattivazione enzimatica dei processi di detossificazione, ipossia tissutale, alto stress ossidativo, alterazione dei cicli metabolici fondamentali.

Tossicità classica, atopia ed MCS possono rappresentare diversi aspetti sintomatici di un'unica patologia ambientale. L'atopia, assieme alla tossicità classica, può essere parte integrante di una patologia ambientale multisistemica molto diffusa definibile come sensibilità chimica.



Distribuzioni ipotetiche di diversi tipi di sensibilità in funzione della dose.

(N. Ashford, C. Miller: Chemical Exposure. Low Levels and High Stakes).

# I metodi per la determinazione della pericolosità e del rischio

- Valutazione tossicologica di un composto di nuova formulazione
- Valutazione di un composto già in uso
  - *Metodi sperimentali*
  - *Determinazione della strategia di ricerca*
  - *Elaborazione graduale dei dati necessari*
  - *Raccolta dei dati disponibili*

# I settori della tossicologia

Non si differenziano per i criteri di valutazione, ma per la presenza di norme di legge differenti e di specifiche disposizioni nell'esecuzione delle ricerche:

- *Tossicologia dei farmaci*
- *Tossicologia clinica*
- *Tossicologia industriale*
- *Tossicologia degli alimenti*
- *Tossicologia dei cosmetici*
- *Tossicologia ambientale*

# Le discipline connesse con la tossicologia

*Per la valutazione dei problemi tossicologici sono necessarie una varietà di informazioni provenienti da differenti discipline scientifiche, chimica analitica, biochimica, biologia molecolare, genetica, fisiologia, discipline mediche e veterinarie.*

# Riepilogo

- Per riconoscere le caratteristiche pericolose delle sostanze chimiche la tossicologia ricorre alle conoscenze e alle metodologie di molte discipline delle scienze naturali e della medicina.
- Differenti settori di impiego delle sostanze chimiche.
- Compito comune a tutti i settori della tossicologia.
- Raccolta di informazioni su una sostanza.

# Il metabolismo di sostanze esogene

- Le sostanze lipofile vengono metabolizzate in sostanze idrosolubili ed eliminabili
- Biotrasformazione
- Bioattivazione (sostanze mutagene, cancerogene e tossiche)
- La > parte dei metaboliti elettrofili reagisce con nucleofili liberi “molecole accettori”, in particolare con il tripeptide GSH e con l’H<sub>2</sub>O, e viene così disattivata

# Le monoossigenasi citocromo P-450 dipendenti

- Le monoossigenasi citocromo P-450 dipendenti possiedono un ruolo chiave, poiché le reazioni da loro catalizzate determinano la velocità dell'intero processo metabolico
- Si tratta di una famiglia di enzimi con caratteristiche differenti e spesso sovrapponibili
- Permettono all'organismo di ossidare praticamente tutte le sostanze organiche

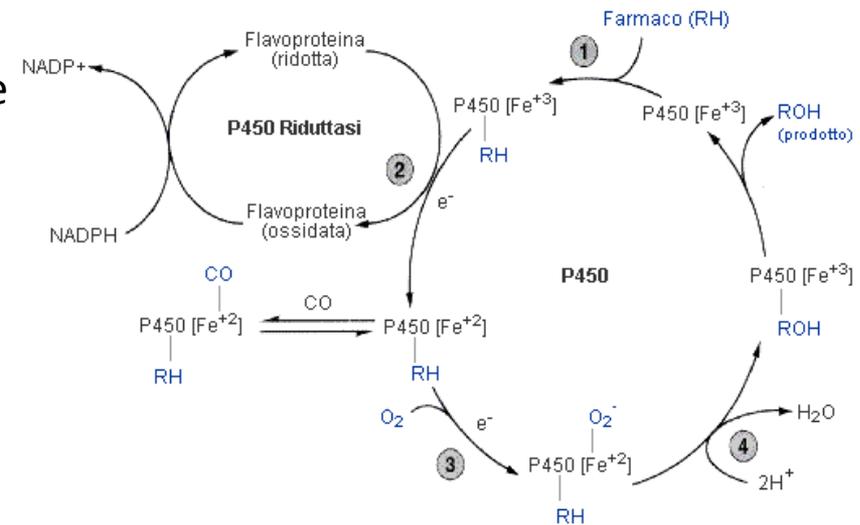
# Il funzionamento e le possibili interazioni di questo complesso sistema enzimatico con i substrati è rappresentabile dal cosiddetto ciclo di ossidazione.

**Stadio 1.** la molecola esogena si lega come substrato all'eme.

**Stadio 2.** Dopo il legame con il substrato l' $\text{Fe}^{3+}$ -eme viene ridotto a  $\text{Fe}^{2+}$  da NADPH e citocromo P-450 reduttasi e l'ossigeno molecolare si lega.

**Stadio 3.** Per trasferimento di un secondo elettrone dal NADPH un atomo di ossigeno viene ridotto ulteriormente a  $2^-$  e viene eliminato come acqua. In questo modo si forma l'agente ossidante, un complesso ferro-ossigeno molto labile con un elevato potenziale di ossidazione.

**Stadio 4.** Il complesso ferro-ossigeno ossida il substrato. Per dissociazione del prodotto di ossidazione il catione ferro torna allo stato trivalente e la reazione può iniziare nuovamente.



- Ogni organismo è dotato di un ampio spettro di monoossigenasi contenenti citocromo P-450.
- Per la determinazione dei tanti enzimi è stata introdotta una nomenclatura unica, che si basa sul grado di parentela con la sequenza di geni.
- Le sostanze esogene vengono metabolizzate prevalentemente da enzimi appartenenti alle grandi famiglie da 1 a 3.
- Nell'uomo e negli animali da laboratorio sono caratterizzati molti enzimi P-450.
- L'attività e la specificità enzimatica nell'uomo spesso si differenziano notevolmente da quelle degli animali di laboratorio.
- Tipiche dell'uomo sono grosse differenze di attività enzimatiche interindividuali.

- Dal punto di vista quantitativo il fegato gioca il ruolo più importante nella trasformazione ossidativa di sostanze endogene ed esogene.
- Sostanze esogene come inibitori delle reazioni citocromo P-450: i farmaci possono avere un'azione diretta di inibizione.
- I prodotti del metabolismo di alcune sostanze esogene inibiscono l'enzima metabolizzante in modo irreversibile.
- I metalli pesanti, come cobalto o piombo, inibiscono *in vivo*, perché interferiscono con la biosintesi dell'enzima.
- L'interazione di una sostanza esogena con effetto induttivo sugli enzimi porta a un metabolismo accelerato dell'induttore e di altri substrati enzimatici.

- Per avere una induzione è necessaria l'interazione dell'induttore con una specifica proteina recettore.
- Il complesso recettore migra all'interno del nucleo cellulare e legandosi alla regione genica di promozione dell'enzima mette in azione la sintesi di mRNA.
- I pesci e gli anfibi ossidano le sostanze esogene molto più lentamente dei mammiferi.



Molte sostanze chimiche utilizzate in agricoltura, moderatamente tossiche per i mammiferi, sono potenti veleni per i pesci.

# Le monoossigenasi flavina dipendenti e le loro reazioni

- Accanto alla monoossigenasi contenenti citocromo P-450 la frazione microsomale contiene monoossigenasi flavina-dipendenti – conosciute in passato come “N-ossidasi” o “aminossidasi a funzione mista” – come ulteriore sistema di ossidazione.
- La monoaminossidasi (MAO) è specifica soprattutto per l’ossidazione di amine primarie, che difficilmente vengono trasformate da FMO.

# Le perossidasi e le loro reazioni

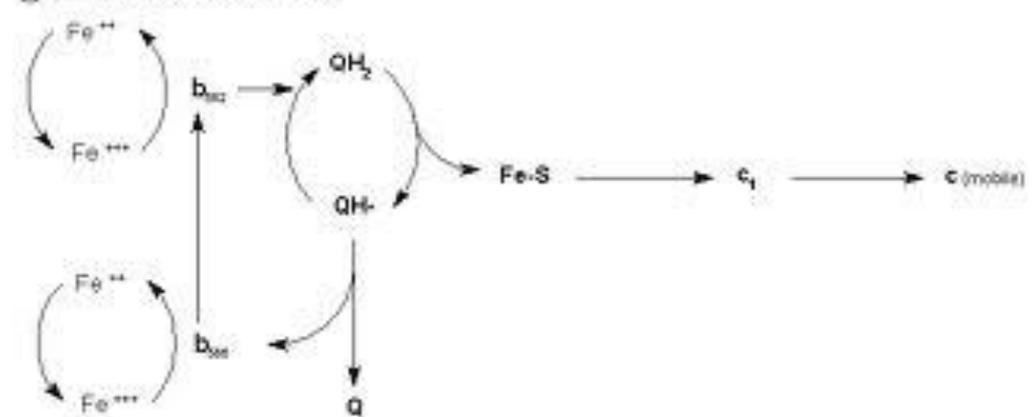
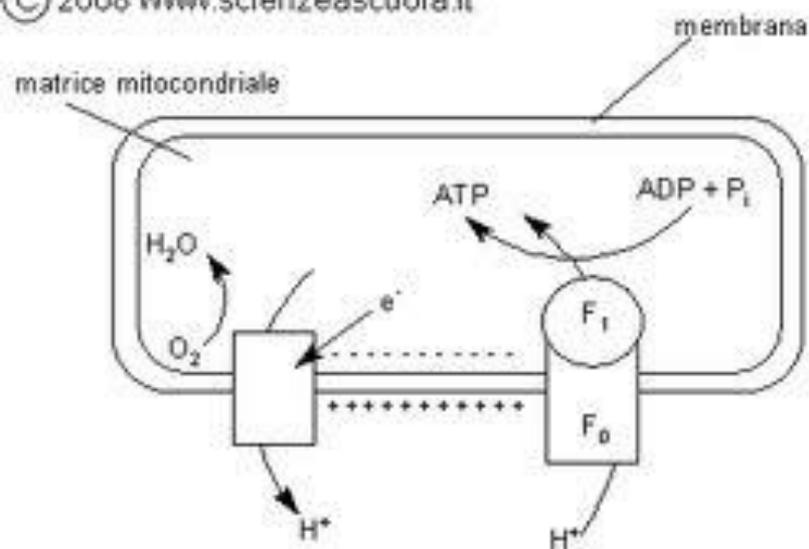
- Le perossidasi dipendenti da acqua ossigenata (POD) sono emoproteine contenenti ferro (III), che catalizzano il trasferimento di elettroni da un substrato X-H facilmente ossidabile a una molecola di acqua ossigenata accettore, che si riduce ad acqua.
- In presenza di un agente riducente come GSH il substrato radicalico può essere ridotto a composto di partenza.
- In questo caso il radicale GS formato da GSH dimerizza a GSSG
- Infine il radicale [X·] può anche formare legami covalenti con le proteine e il DNA.



- La prostglandina H sintetasi (PGS) è un complesso enzimatico contenente ferro che catalizza la biosintesi di prostglandine e trombossani.
- Le sostanze esogene possono essere “co-ossidate” mediante l’attività perossidasi dell’enzima.

# La riduzione

- Le sostanze esogene contenenti gruppi funzionali riducibili vengono ridotte dagli enzimi microsomiali e citoplasmatici
- Le sostanze esogene assunte per via orale possono essere ridotte dai batteri intestinali
- Come per l'ossidazione anche nella riduzione si possono formare metaboliti tossici
- Nell'organismo sono presenti numerosi enzimi riducenti
- Si trovano soprattutto dove l'ossigeno viene ridotto o dove i metalli negli enzimi devono essere trasformati da una valenza più alta a una più bassa



Schema dell'ossidazione da ubiquinolo ( $\text{QH}_2$ ) a ubiquinone mediante i gruppi eme della citocromo reduttasi (seconda pompa protonica della catena respiratoria). L'elettrone rimasto nel semichinone ( $\text{QH}\bullet$ ) viene trasferito ai due gruppi eme del citocromo b,  $\text{b}_{566}$  e  $\text{b}_{562}$ .

## La coniugazione

- Nella coniugazione di sostanze esogene si formano generalmente composti più idrosolubili e quindi facilmente eliminabili
- La coniugazione con GSH è catalizzata da GSH-transferasi
- GSH è contenuto in tutte le cellule

