

Chimica Tossicologica

Ricerca qualitativa e quantitativa di **sostanze tossiche**, inorganiche, organiche e metalloorganiche, siano esse allo stato di gas, vapore, liquido o solido.

Dove condurre la ricerca:

- Visceri
- Liquidi biologici
- Alimenti
- Prep farmaceutiche
- Polveri
- Prodotti vegetali

Come condurre la ricerca:

Impiego di analisi chimico-tossicologiche sofisticate sia per sensibilità che per specificità

- Reazioni cromatiche
- MP e BP
- Esami al microscopio



- Cromatografia su carta
- Su strato sottile
- Gas-cromatografia
- IR e UV
- Assorbimento atomico
- NMR
- Spettrometria di massa

Campi di applicazione:

- Ricerche chimico-tossicologiche in tema di avvelenamento omicidiario, suicidiario o accidentale
- Diagnosi chimico-tossicologica d'urgenza
- Ricerche quali e quantitative di sostanze ad azione stupefacente
- Controlli antidoping
- Accertamenti su liquidi biologici
- Ricerche chimico-tossicologiche su alimenti vari

Compito del chimico-tossicologo è:

Ricerca l'eventuale sostanza tossica nel materiale d'esame, conducendo vari procedimenti analitici in modo da isolare allo stato di maggiore purezza il veleno, di identificarlo qualitativamente, ed infine procedere alla sua determinazione quantitativa

Farmaci

Sostanze designate ad avere un'attività biologica, e che in certe condizioni possono esprimere un'azione tossica

La pericolosità di un farmaco è legata a diversi fattori

- Natura della risposta tossica
- Dose
- Margine tra la dose terapeutica, e soglia tossica

Altri fattori determinati: età, sesso, età, esposizione ambientali ad altre sostanze

Veleni

Ogni sostanza che introdotta nell'organismo causa malattia (eventualmente anche la morte) con meccanismo chimico o biologico (definizione medico-legale)

Tale definizione forense non prevede il fattore "dose"

Quindi piu' che definire un "veleno" possiamo definire l' "avvelenamento".

Avvelenamenti e Intossicazioni

Avvelenamento: Perturbamento acuto, subacuto, cronico della salute di un individuo a causa dell'assunzione di una sostanza di tipo farmacologico dotata di azione incongrua e disordinatrice dell'equilibrio vitale

Avvelenamento acuto

Unica massiva ingestione di farmaco

Nessuna
sintomatologia
specifica

Avvelenamento cronico

Assunzione del veleno/farmaco a dosi piccole ma ripetute nel tempo

Precisa sintomatologia
specifica

Altro tipo di tossicità

- **Allergie-ipersensibilità** prodotte da molecole estranee, farmaci e loro metaboliti. Le conseguenze vanno da lievi dermatiti fino allo shock anafilattico
- **Discrasia ematica** (leucopenia, granulocitopenia)
- **Epatotossicità e nefrotossicità**: molto frequenti
- **Effetti teratogeni**: variazioni genetiche
- **Tossicità comportamentale** (psicofarmaci)
- **Dipendenza psichica e fisica**

Anche sostanze velenose, in dosi minime, possono avere utili applicazioni in terapia

Nel XVII secolo Paracelus affermava che "tutte le sostanze sono veleni, solo la dose differenzia un veleno da un farmaco"

La tossicità di una sostanza, non è una qualità intrinseca (odore, sapore, solubilità), ma dipende da numerosi fattori estrinseci dell'essere umano (età, peso, sesso, genetica)

Classificazione dei veleni

- Alfabeticamente
- Farmacologicamente (antidiabetici, anticonvulsivanti)
- Per struttura chimica (barbiturici, fenotiazine, etc)
- Analiticamente

Classificazione analitica: si basa sul metodo usato per separare i veleni dal materiale biologico

I veleni possono essere raggruppati secondo le loro caratteristiche chimico-fisiche:

- ✓ 1° Gruppo: gas inducenti intossicazione tramite inalazione (CO , H_2S , HCN)
- ✓ 2° Gruppo: liquidi volatili estraibili in corrente di vapore (C_6H_6 , aldeidi, chetoni, eteri)
- ✓ 3° Gruppo: Acidi e basi forti (HF , HCl , H_2SO_4 , NaOH , NH_4OH , etc)
- ✓ 4° Gruppo: veleni metallici e metallocationici (As , Tl , Hg , BaCl_2 , etc)
- ✓ 5° Gruppo: sostanze organiche non volatili (90% dei veleni)

Es: Vapori e gas: **CO**

Alta affinità per il ferro nell'emoglobina
(220 volte > dell'ossigeno)

HCN

Azione: inibizione delle cellule nel bruciare ossigeno
Target: Cervello e cuore

Metalli

Metalli essenziali sono in tracce presenti
nell'organismo come cofattori delle normali
funzioni biochimiche

Contaminazioni ambientali sono gli scarichi
domestici, industriali, i carburanti

Azioni chimiche e biochimiche di un veleno

Chimiche: si manifestano in maniera violenta sull'organismo, mediante profonde e immediate alterazioni dei tessuti, ed è tipico degli acidi e basi forti.

Es: H_2SO_4 , HCl , $NaOH$

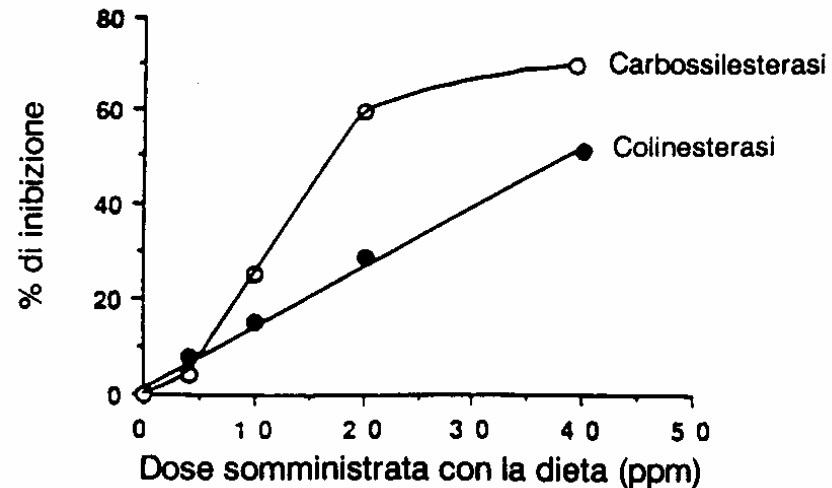
Biochimiche: variano da farmaco a farmaco e sono correlate alla facilità e velocità di assorbimento.

Bario: il $BaCl_2$ provoca arresto cardiaco, il $BaSO_4$ è atossico!!!

Relazione Dose-Risposta

Relazione tra le caratteristiche dell'esposizione e lo spettro degli effetti tossici

- Risposta individuale
- Risposta della popolazione



Le relazione dose-risposta

- per un individuo è di natura **graduale**
- per una popolazione è di natura **quantale**

1ª condizione: reale correlazione causa-effetto

2ª condizione: la risposta osservata deve essere funzione della dose

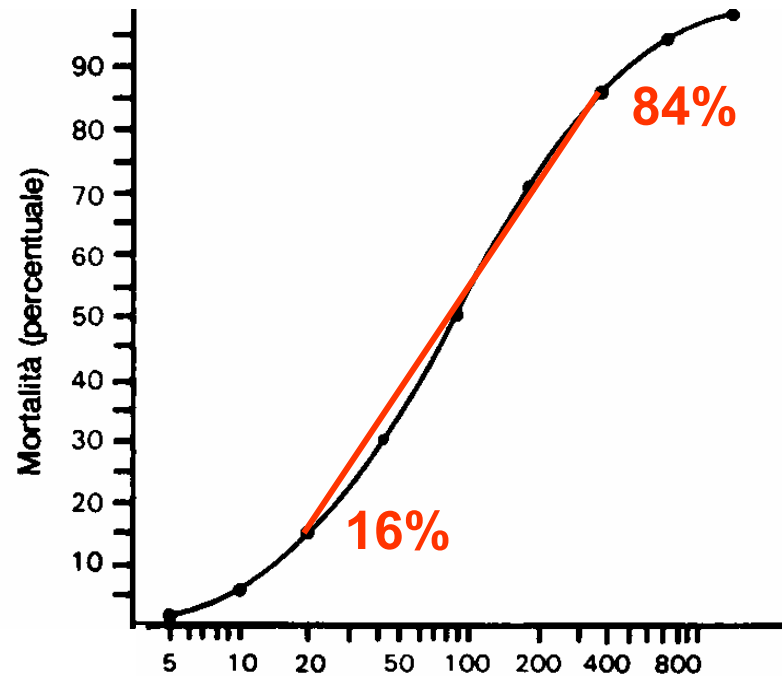
Alias:

- ❑ Esiste un sito molecolare o recettore con cui la sostanza reagisce
- ❑ Entità e tipo di risposta sono in relazione alla concentrazione dell'agente nel suo sito
- ❑ La concentrazione dell'agente nel sito di azione è in relazione alla dose somministrata

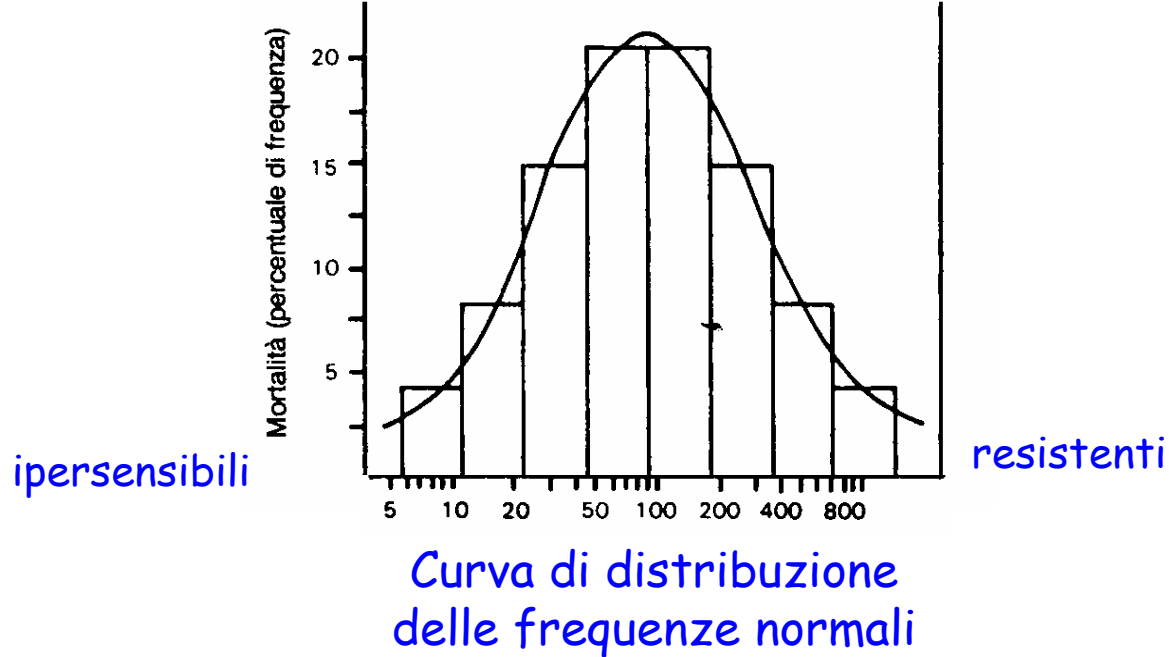
L'indice di letalità è quantale e inequivoco ed è in genere il primo indice usato per nuovi xenobiotici

Indici di Tossicità

DL_{50} : dose letale mediana, dose di una sostanza che causa la morte del 50% degli animali trattati



La dose soglia (*tutti o nulla*), non può essere determinata sperimentalmente



Per una distribuzione gaussiana:

$$\text{Media} \pm \sigma = 68.3\%$$

$$\text{Media} \pm 2\sigma = 95.5\%$$

$$\text{Media} \pm 3\sigma = 99.7\%$$

Conversione in DEN

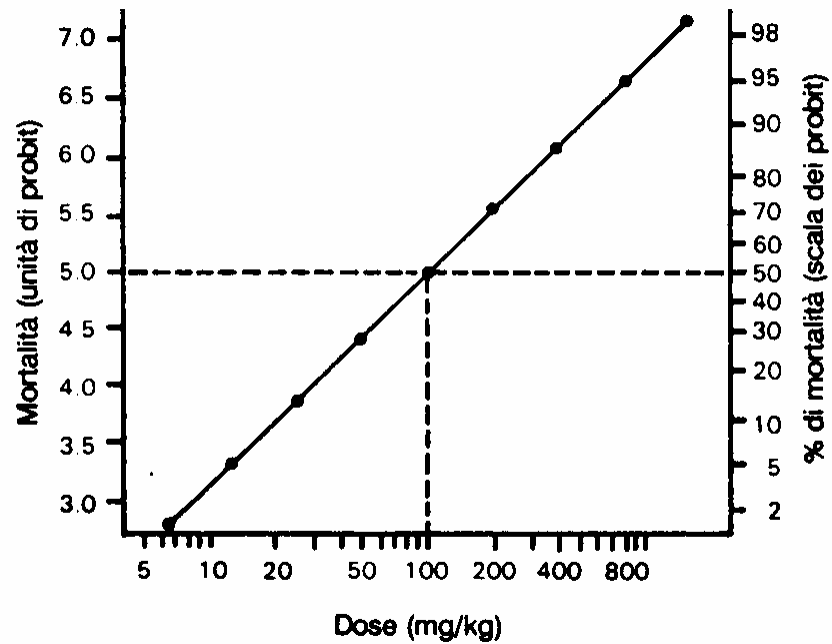
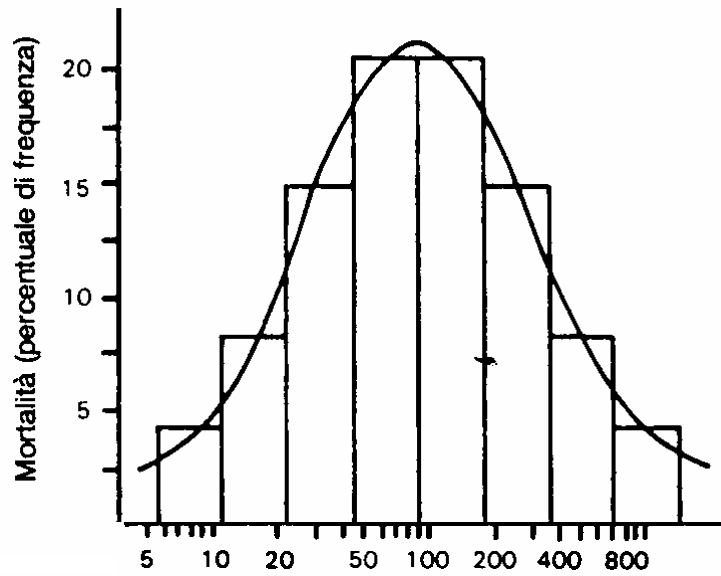
deviazioni
equivalenti
normali

Unità di
probabilità

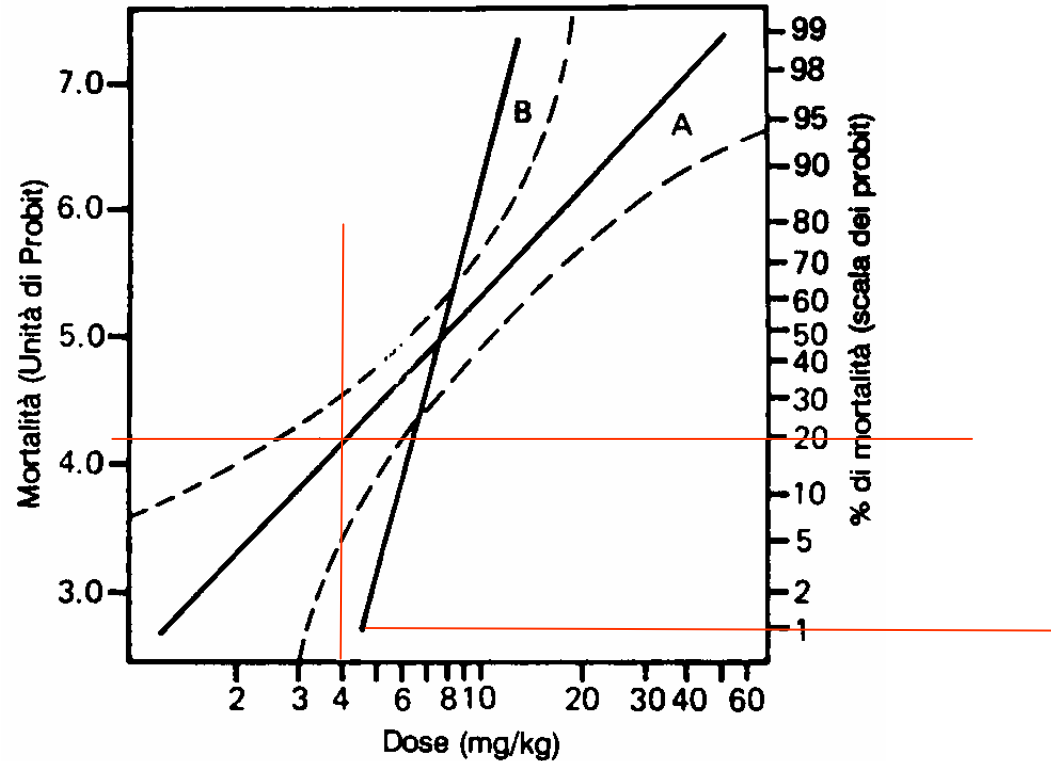
$$\text{DEN (50\%)}=0$$

$$\text{DEN(84.1\%)}=+1$$

$$\text{Unità di Probit} = \text{DEN} + 5$$



----- Limiti Fiduciali



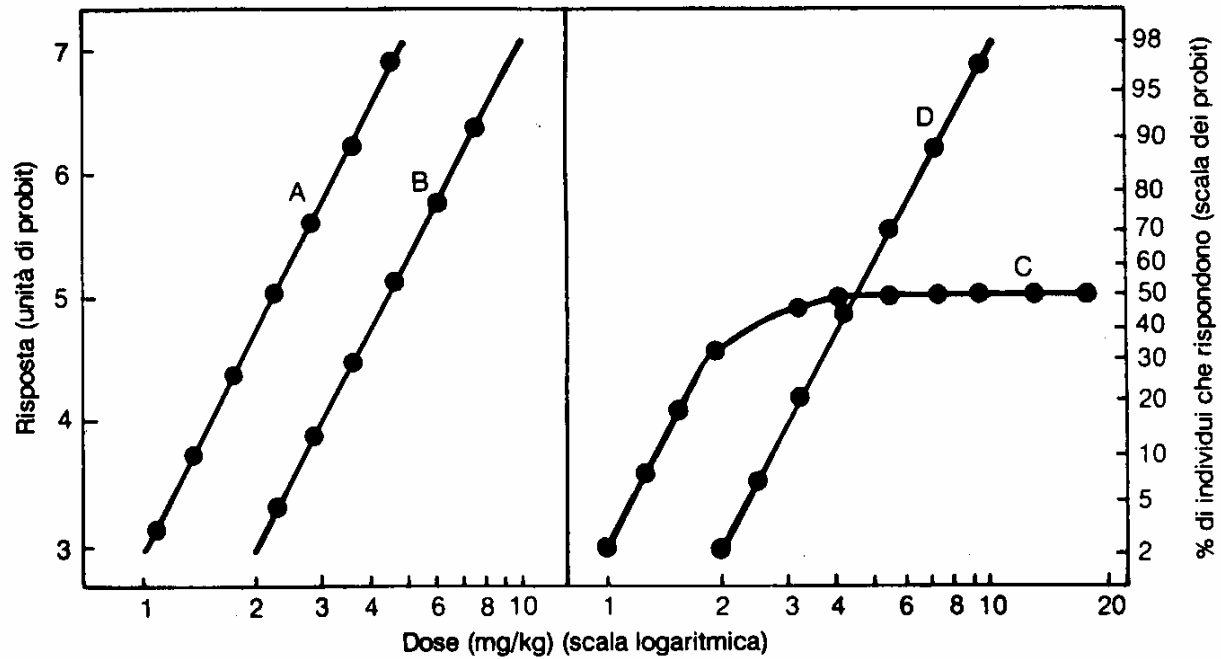
DL_{50} : non è un dato molto significativo!!!

Il dato più interessante estrapolabile dal DL_{50} è il **postmortem**

CL_{50} : concentrazione letale mediana (aria o acqua)

Si deve indicare il tempo di esposizione

Potenza ed efficacia



Fasi Farmacocinetiche di Farmaci e Veleni

- Assorbimento
- Distribuzione
- Biotrasformazione
- Eliminazione

Importanza di tali modalità

Il curaro è letale per via parenterale, innoquo per via enterale
L'esano fa perdere conoscenza se inalato, è innoquo se bevuto!!!?

Corretta interpretazione
dei risultati dell'indagine
chimico-fisica

Target da sottoporre ad analisi

Sangue, plasma, urine

Cervello - i liposolubili
Cuore - glicosidi cardiaci²⁰

Assorbimento

Fattori determinanti

Solubilità

Le sostanze acide a pH dei succhi gastrici precipitano

Velocità di soluzione (per i solidi)

Gli insolubili non vengono assorbiti (BaSO_4)

Concentrazione: diretta proporzionalità

Circolazione topica

Superficie assorbente (polmonare, cavità peritoneale, mucosa intestinale)

Vie di somministrazione

- Assunzione orale
- Assunzione parenterale
- Intramuscolare
- Intravena
- Via inalatoria
- Altre vie di assunzione

Assunzione orale

Mucosa orale:

- Rapido
- elevata concentrazione
- nessun metabolismo del farmaco

Tratto gastro-intestinale:

dipende dal pH, si ha per diffusione non ionica.*

La velocità di assorbimento influenzata dalla replezione intestinale

*Es. acidi deboli (salicilati e barbiturici) vengono assorbiti a pH acidi, basi deboli a pH quasi neutri (5.3 nel tratto intestinale)

Assunzione parenterale

Vantaggi:

- Farmaco assorbito in forma attiva
- Assorbimento rapido
- Dose efficace scelta con più cura

Avviene per **diffusione non ionica** attraverso le membrane capillari ed è proporzionale al coefficiente di ripartizione lipidi-acqua della sostanza

a) **Sottocute**: assorbimento lento, possibilità di somministrazione di sospensioni o in granelli(assorbimento molto lento, es. ormoni)

b) **intramuscolare**: assorbimento in profondità, assorbimento per diffusione. Se il farmaco è solubilizzato in olio l'assorbimento è lento, p.e. la penicellina.

c) **intravena**: il farmaco viene messo direttamente in circolo, accuratezza e immediatezza della concentrazione

d) **inalatoria**: gas o sostanze volatili, sito di assorbimento principale i polmoni. Ampia superficie assorbente, elevata circolazione sanguigna, breve distanza di diffusione.

La velocità di **assorbimento polmonare** è correlata a:

- Coefficiente di ripartizione sangue-gas
- Velocità del flusso ematico
- Pressione parziale nel sangue arterioso e venoso

La velocità di **assorbimento sangue-tessuti** dipende da:

- Coefficiente di ripartizione tessuti-sangue
- Velocità di distribuzione del sangue nei tessuti
- Pressione parziale del gas nel sangue e nei tessuti

Altre vie di assunzione:

Mucosa vaginale, rettale, congiuntivale, orofaringea

Sono pochi i farmaci citotossici che penetrano la cute integra. In genere hanno natura liposolubile.

Distribuzione

Avviene, attraverso la corrente circolatoria, nei fluidi interstiziali

Le sostanze ionizzate non passano le membrane cellulari le non ionizzate le passano e si distribuiscono attraverso tutti i compartimenti

Si possono avere **accumuli** che in certi casi creano un vero e proprio deposito!!!

Altre sostanze si accumulano sia nel luogo di azione del farmaco sia in altri organi e tessuti

Il farmaco immagazzinato è in equilibrio con quello presente nel plasma, e viene rilasciato man mano che le concentrazioni plasmatiche si riducono

Depositi preferenziali

Proteine Plasmatiche-albumine

Es.:

il Fenilbutazone si deposita al 98%

Il barbital al 5%

Antipirina allo 0%

Cellule

Chinacrina-target il fegato. Dopo 4h la sua conc è 2000 volte superiore a quella plasmatica

Grasso

Sostanze liposolubili o con alto coeff. di ripartizione grasso/acqua. Es: Tiopentone (barbiturico) 70% nel grasso dopo 3 ore

Ossa- metalli pesanti e tetracicline

Biotrasformazioni

Avvengono soprattutto a livello epatico-renale

Necessarie per l'eliminazione del tossico

Possono essere:

Non sintetiche:

Ossidazioni

Riduzioni

idrolisi

Sintetiche:

coniugazioni con substrati endogeni. Es: carboidrati, aminoacidi, solfati organici.

Eliminazione

Integri (sostanze polari) o come metaboliti (meno polari)

Renale

Epatica-fecale

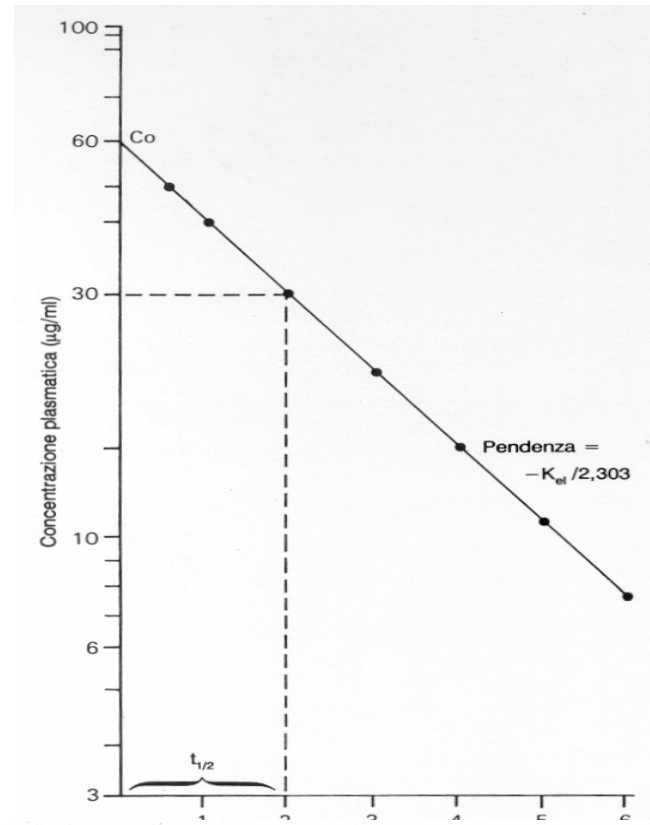
Secrezione latte

Escrezione polmonare

Modelli a compartimento

**Tossicocinetica
(farmacocinetica): studio
delle cinetiche di
xenobiotici (farmaci)**

Un modello si definisce ad un **compartimento** se il logaritmo della concentrazione di uno xenobiotico contro il tempo da un responso lineare



TEMPO (ore)	0	1	2	3	4	5	6
Quantità di sostanza rimanente (mg)	60	42	29,4	20,6	14,4	10,1	7,0
Quantità di sostanza eliminata (mg)	18	12,6	8,8	6,1	4,4	3,1	
Quantità di sostanza eliminata (% del rimanente)	30	30	30	30	30	30	30

$$\log C = \log C_0 - \frac{K_{el} T}{2.303}$$

$$C = C_0 e^{-K_{el} t}$$

Tempo di dimezzamento:
tempo in cui la concentrazione
plasmatica si riduce del 50%

$$t_{1/2} = 0.693/K_{el}$$

Con $t = 7t_{1/2} > 99.2 \%$

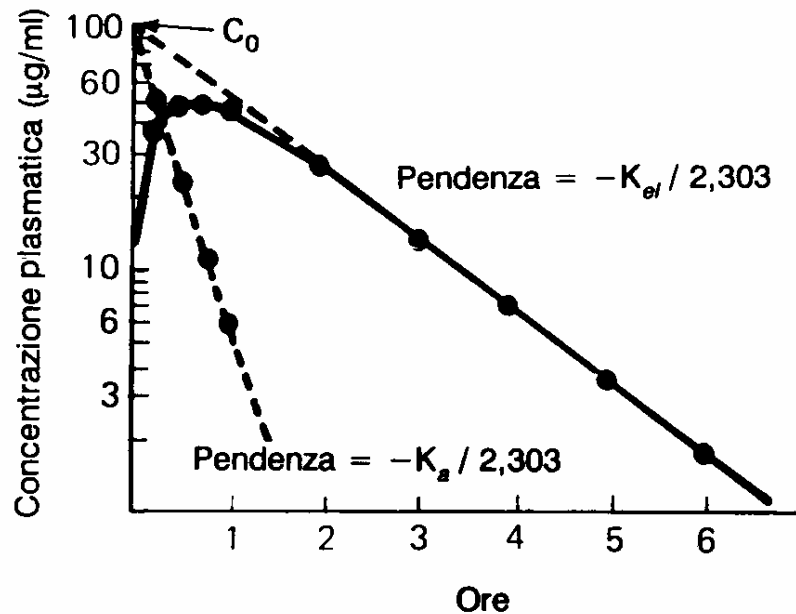
Se i prelievi vengono effettuati sulle urine
Si ha il Metodo del Σ minus plot

Quando il $t_{1/2}$ è indipendente
dalla dose si ha il principio
della superposizione

- La quantità di sostanza eliminata in ogni momento è direttamente proporzionale a quella presente nell'organismo in quello stesso momento
- Un grafico semilogaritmico in cui vengono riportate le concentrazioni plasmatiche in funzione del tempo descrive una linea retta
- L'emivita $t_{1/2}$ è indipendente dalla dose
- La concentrazione di una sostanza nel plasma e negli altri tessuti diminuisce ad una velocità costante nell'unità di tempo (K_{el})

Per una somministrazione diversa da quella endovenosa i modelli sono più complicati

Somministrazione
orale

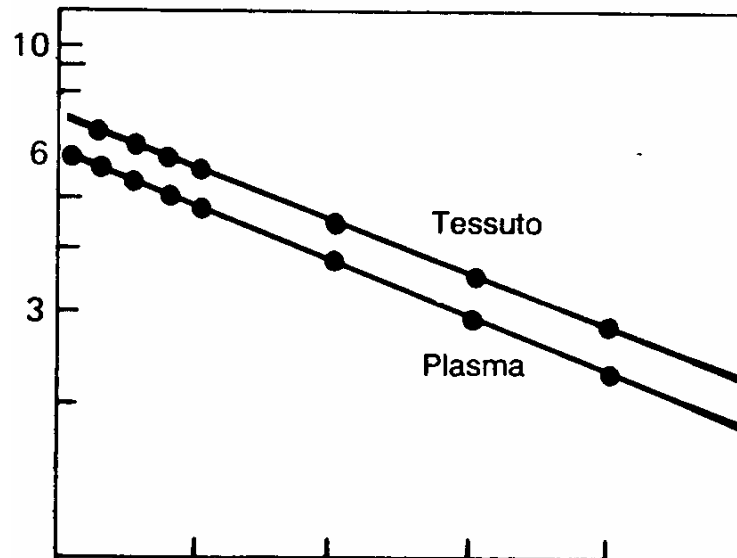


Per determinare la K_a e il $t_{1/2}$, si sfrutta il metodo dei residui

Modelli multicompartimentali

Se il grafico $\log C$ contro t non da responso lineare allora si passa ad una **analisi multicompartimentale**

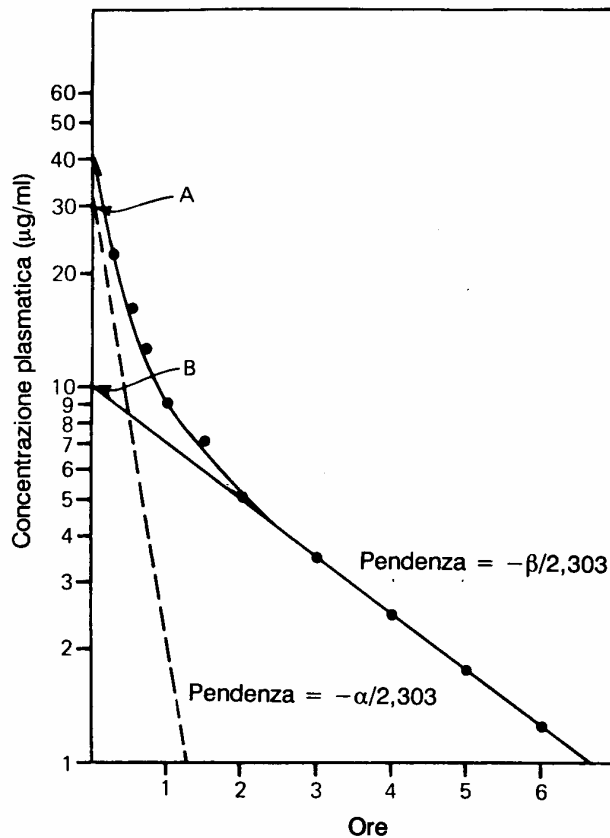
In certi casi l'equilibrio (C tissutale- C plasmatica) viene raggiunto lentamente



Modello bicompartimentale

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$$

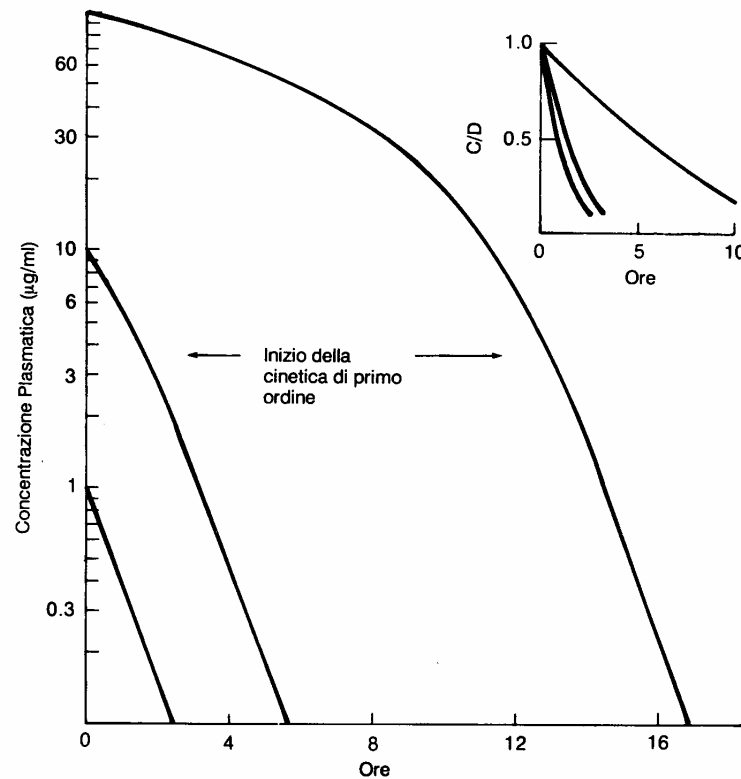
A, B costanti di proporzionalità
 α e β costanti di velocità [t^{-1}]



$$\text{Log } C = \log A - \frac{\alpha t}{2.303} + \log B - \frac{\beta t}{2.303}$$

Saturazione dell'eliminazione

A dosi elevate si verifica un rallentamento dell'eliminazione per la limitata capacità



E' importante per gli effetti di tossicità che ne derivano ³⁸

Criteri per una farmacocinetica non lineare:

- ✓ Diminuzione di concentrazione non lineare
- ✓ Il $t_{1/2}$ aumenta all'aumentare della dose
- ✓ L'AUC (area sotto la curva descritta dal grafico) non è proporzionale alla dose
- ✓ La composizione dei prodotti escreti può variare sia qualitativamente che quantitativamente con la dose
- ✓ Può esserci inibizione competitiva
- ✓ La curva D-S può mostrare con l'aumento di D un inusuale marcato incremento di R a partire da un livello di D in cui inizia la saturazione

In certi casi la saturazione viene raggiunta così velocemente che la cinetica diventa di **ordine zero**

Caratteristiche di una cinetica di ordine zero:

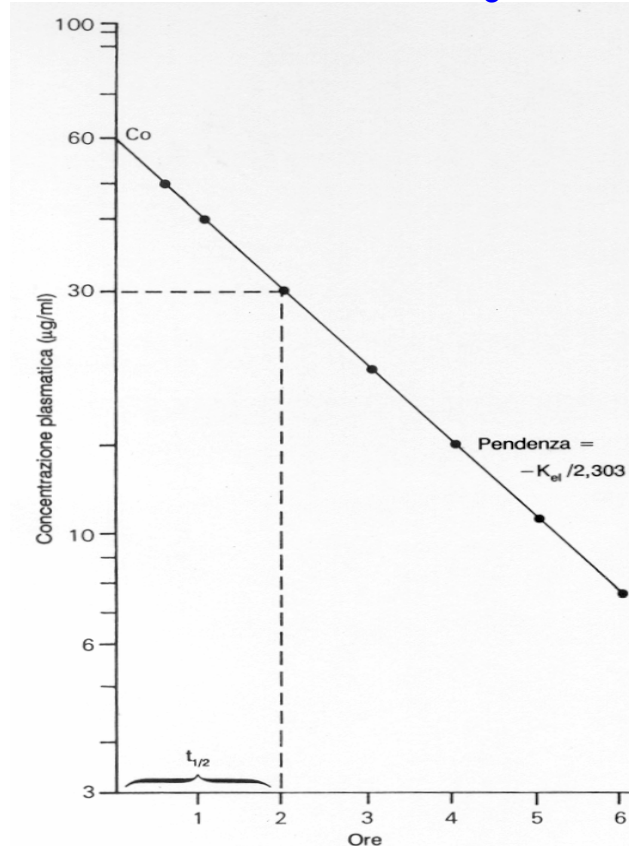
- Grafico aritmetico lineare
- Velocità di eliminazione indipendente dalla quantità presente nell'organismo
- Non esiste nè $t_{1/2}$ nè una K_{el}

Volume apparente di distribuzione

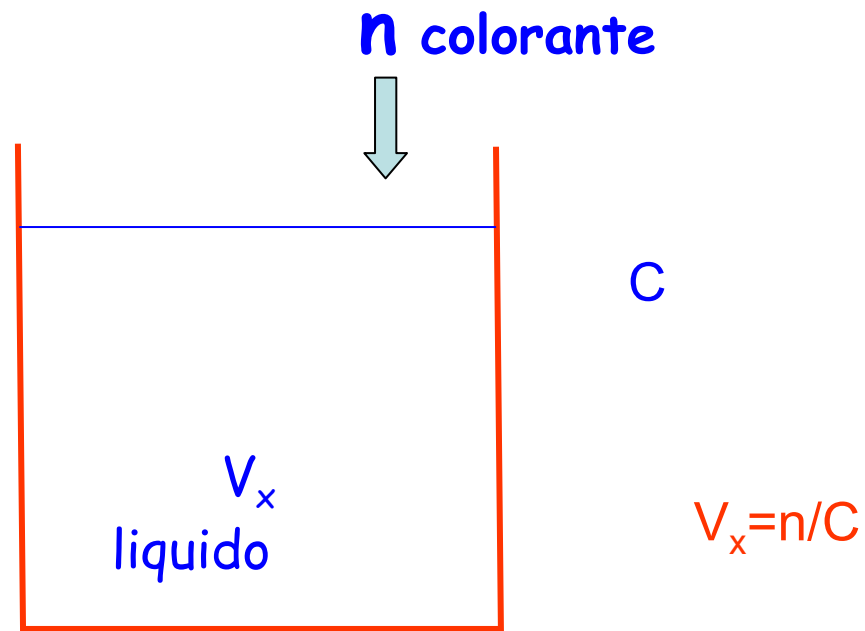
V_d : Relazione tra la concentrazione plasmatiche di una sostanza con la sua quantità totale

$$V_d = \text{Dose} / C_0$$

Vale solo per i modelli ad un compartimento



La determinazione di V_d si basa sul principio della diluizione



Ma nel caso di una sostanza nel plasma C diminuisce!!!!