

## **TOXICOLOGIA:** **ASPECTOS GERAIS DE TOXICODINÂMICA**



Profa. Lucia Regina R. Martins

### **TOXICODINÂMICA**

- mecanismos de ação tóxica de substâncias químicas
- aspectos bioquímicos e moleculares



#### **Importância:**

- avaliação do risco: estimar a possibilidade de efeitos deletérios em populações
- procedimentos preventivos/estratégias de tratamento
- desenvolvimento de produtos mais seletivos e menos tóxicos
- compreensão de mecanismos fisiológicos/patológicos (ex.: carcinogênese)

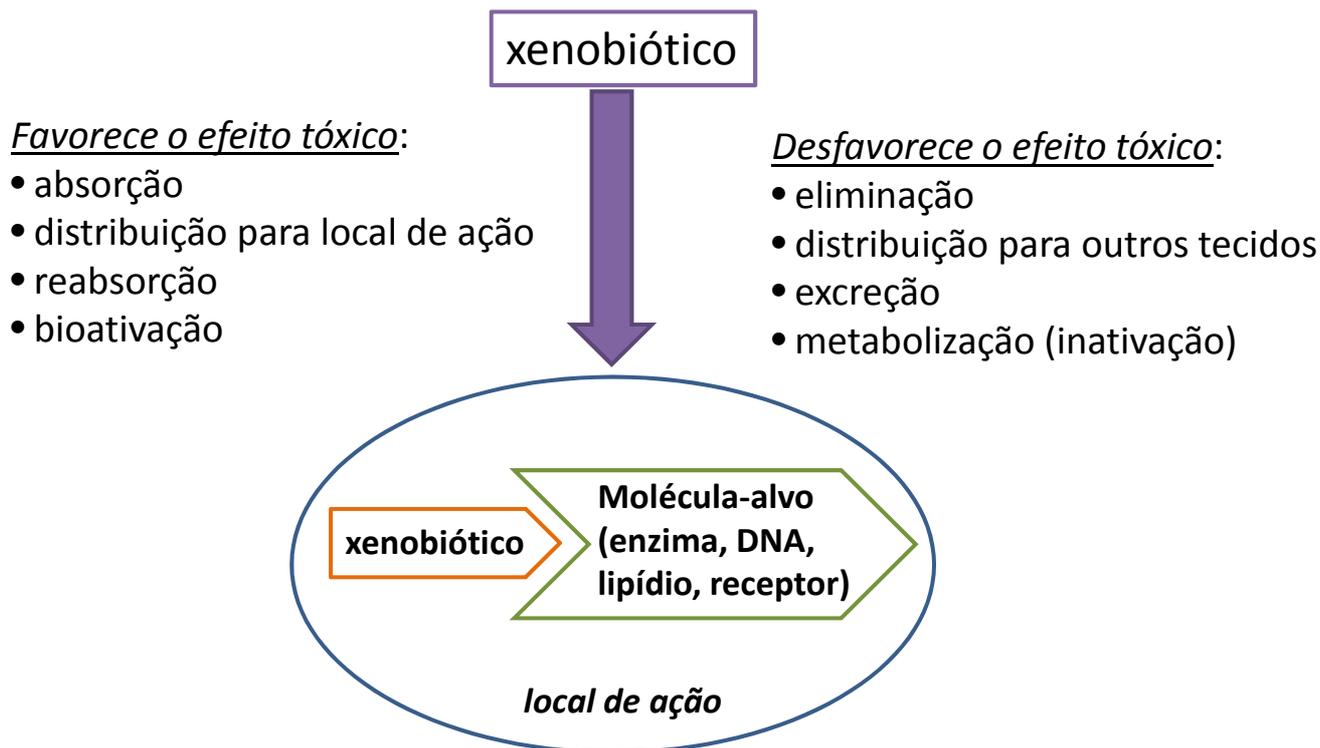
#### ➤ **Considerações:**

- diversidade de mecanismos de ação
- permanência do toxicante no sítio de ação (alvo biológico): *fatores toxicocinéticos*
- no sítio de ação: interação depende de aspectos *químicos e estruturais* (substância e sítio molecular).

*Lembrando Paracelso:*

*“todas as substâncias são tóxicas... a dose faz a diferença entre remédio e veneno”*

## Fatores que influenciam a interação com sítio de ação



➤ mecanismos de reparo podem evitar danos celulares mesmo após interação com alvo biológico

## TOXICIDADE – classificação de acordo com a exposição

### 1. Aguda:

- exposição única ou múltiplas exposições em curto período de tempo (24 h)
  - efeitos imediatos ou após alguns dias (máx. 2 semanas)
  - avaliação experimental: mínimo 3 espécies animais
    - ✓ observação de sinais/sintomas
    - ✓ determinação do percentual de mortalidade
  - **Parâmetros para determinar o grau de toxicidade:**
    - ✓ **DL<sub>50</sub>** ou **DL<sub>10</sub>**: doses letais para 50 ou 10% dos animais testados
      - toxicidade inversamente proporcional ao valor da **DL**
      - para medicamentos:
    - ✓ **DE<sub>50</sub>** ou **DE<sub>90</sub>**: doses efetivas (efeito esperado) para 50 ou 90% dos testados
    - ✓ Para medicamentos:
    - ✓ Índice Terapêutico (IT) →  $IT = \frac{DL_{50}}{DE_{50}}$
    - ✓ Margem de Segurança (MS) →  $MS = \frac{DL_{10} - DE_{90}}{DE_{90}} \times 100$
- **IT e MS:** inversamente proporcionais ao risco de intoxicação.

# TOXICIDADE – classificação de acordo com a exposição

## 2. Crônica:

- decorrente de *exposições repetidas*, durante longo período (meses ou anos)
- efeitos podem ser lentos e graves
- ex.: mutagenicidade e carcinogenicidade

## Classificação dos Agentes Tóxicos:



### • Critérios:

- químico: metais, aminas aromáticas, hidrocarbonetos halogenados, etc...
- físico: gás, líquido e sólido
- bioquímico: inibidor de enzimas específicas, metemoglobinizantes, etc.
- farmacológico: bloqueio de receptores nicotínicos, canais de Cl<sup>-</sup>, etc...

### • Seletividade de ação:

1 – **não-seletivos**: mesmo efeito em qualquer estrutura do organismo; ex.: ácidos e bases corrosivos

2 – **seletivos**: danos a estruturas/órgãos específicos → **alvo biológico**

- geralmente proteínas (enzimas, transportadores, canais iônicos, receptores, inibição da expressão gênica)
  - fatores: diferenças fisiológicas/bioquímicas entre espécies e tipos celulares
  - ex.: antibióticos, fungicidas, inseticidas

➤ A intensidade da intoxicação depende do alvo biológico:

- capacidade de regeneração: tecido epitelial, hepático e nervoso
- capacidade funcional de reserva: rins, pulmões, hemoglobina

# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## I. Interação com receptores

## II. Interferência na excitabilidade de membranas

## III. Inibição da fosforilação oxidativa

## IV. Complexação/reação com biomoléculas

## V. Perturbação da homeostase cálcica



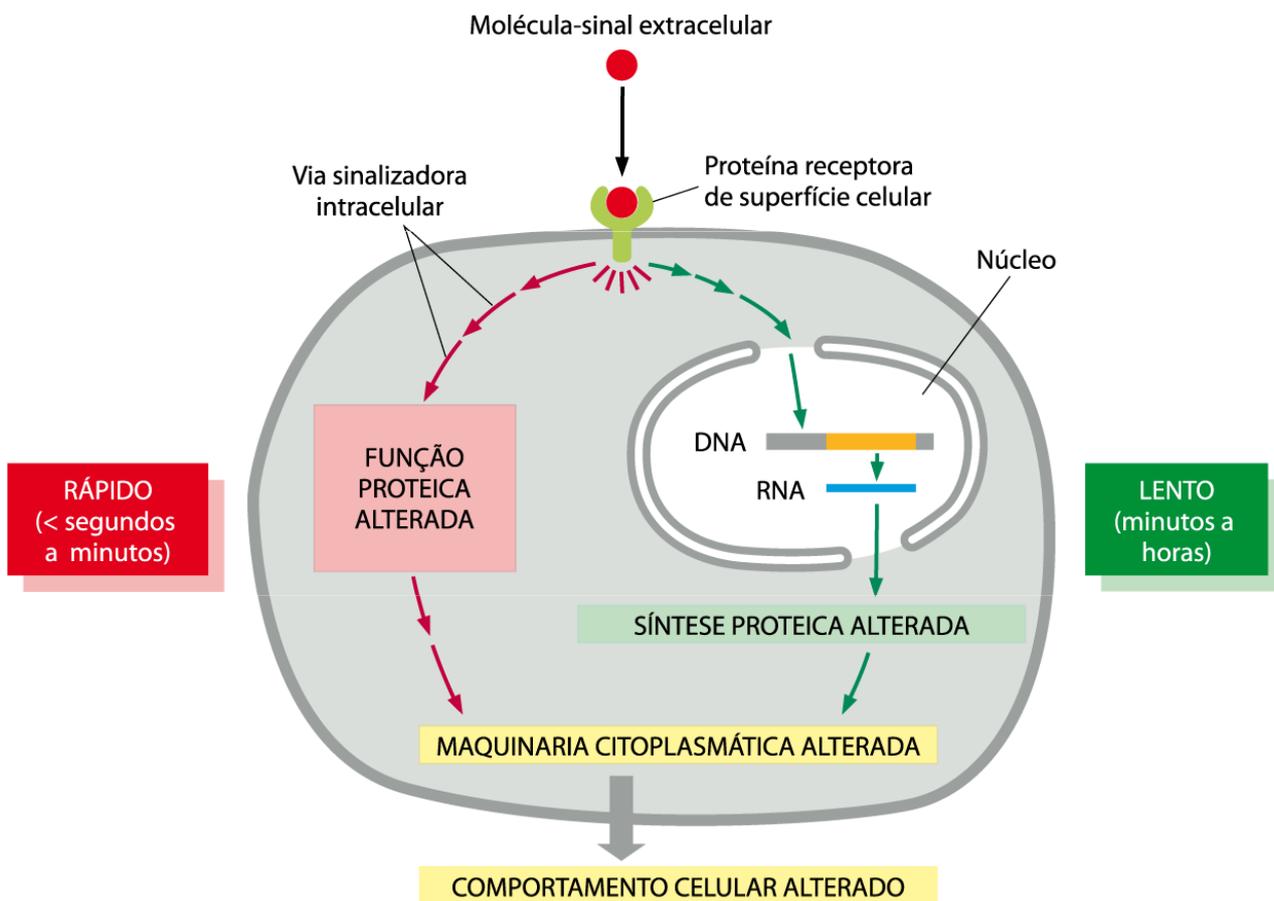
# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos



## I. Interação com receptores

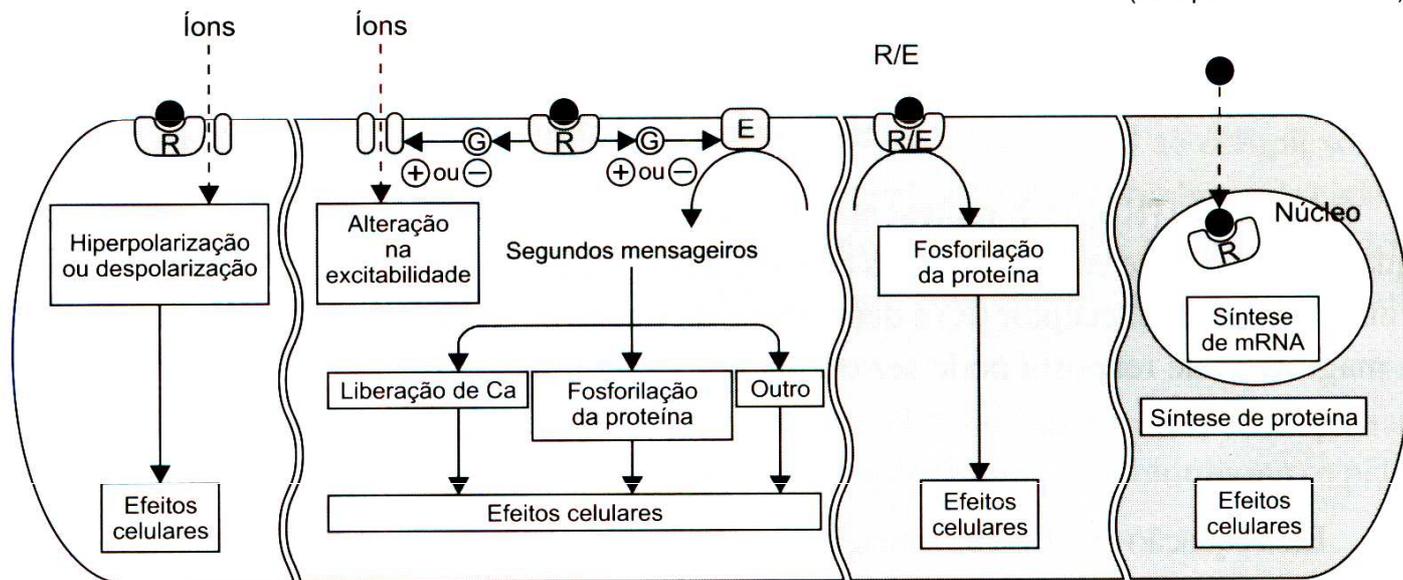
- ★ Receptores: estruturas macromoleculares que participam de sinalizações químicas no organismo;
- ★ interações de *alta seletividade*
- ★ localização: membrana, citoplasma, núcleo
- ★ respostas podem ser **rápidas** ou **lentas** (dependem do mecanismo de transdução):
  - **direto**: ativação/desativação de canais iônicos, inibição enzimática,...
  - **indireto**: segundos mensageiros, inibição/ativação da expressão gênica,...
- ★ **Agonista**: substância que promove o estímulo biológico de receptores
- ★ **Antagonista**: substância que bloqueia/inibe a resposta do receptor

# ❖ Velocidade de resposta mediante sinalização química



## Receptores celulares e mecanismos de transdução de sinal químico

1. Receptores ligados a canais (ionotrópicos)
2. Receptores acoplados à proteína G (metabotrópicos)
3. Receptores ligados à quinase
4. Receptores ligados à transcrição de genes (receptores nucleares)



**Escala de tempo**  
Milissegundos

Segundos

Minutos

Horas

### Exemplos

Receptor nicotínico de ACh

Receptor muscarínico de ACh

Receptor de insulina

Receptor de estrogênio

# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## I. Interação com receptores

❖ A interação com receptores é normalmente reversível:



R = receptor livre

S = ligante (xenobiótico)

RS = complexo receptor-ligante

$$K_d = K_1 / K_2 = [R][S] / [RS]$$

• Número total de receptores  $\rightarrow [R_t] = [RS] + [R]$ ; logo:  $[R] = [R_t] - [RS]$

Portanto:  $[RS] / [R_t] = [S] / K_d + [S]$

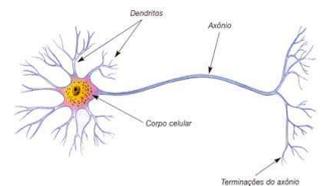
$[RS] / [R_t]$  = fração de receptores ocupados na presença de ligante na concentração [S]

✓ a intensidade do efeito (E) é *dependente* da fração de receptores ocupados;  
Logo:  $E = [S] / K_d + [S]$

... lembrar da cinética enzimática

## Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

### I. Interação com receptores



❖ Exemplo de mecanismo de ação mediado por receptores:

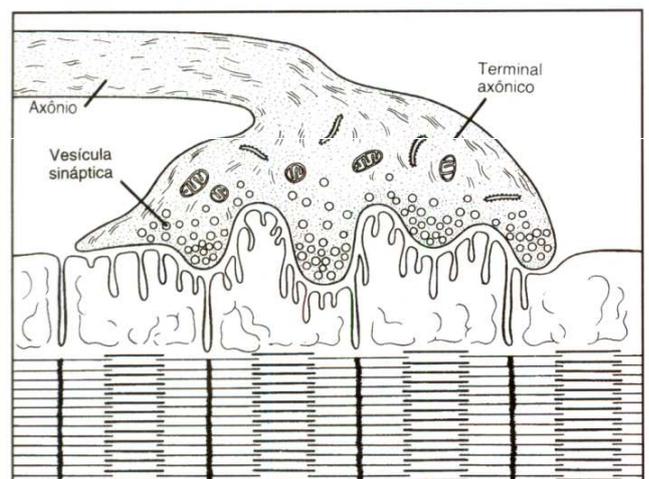
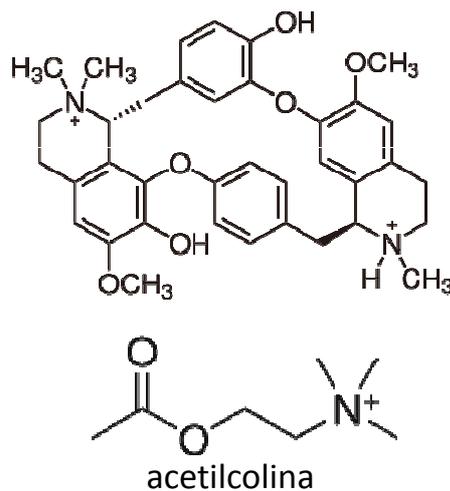
✓ bloqueio colinérgico em receptores nicotínicos da junção neuromuscular

**d-tubocurarina**: alcalóide presente no curare (usado em flechas para caça de animais)  
estrutura polar (quaternário de amônio)  $\rightarrow$  protótipo de fármacos

- antagonista competitivo de receptores colinérgicos na placa motora
- impede despolarização e propagação de estímulo nervoso aos músculos estriados
- efeitos: flacidez muscular (face – membros – tronco – respiratório)



*Strychnos toxifera*



# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## II. Interferência na excitabilidade de membranas

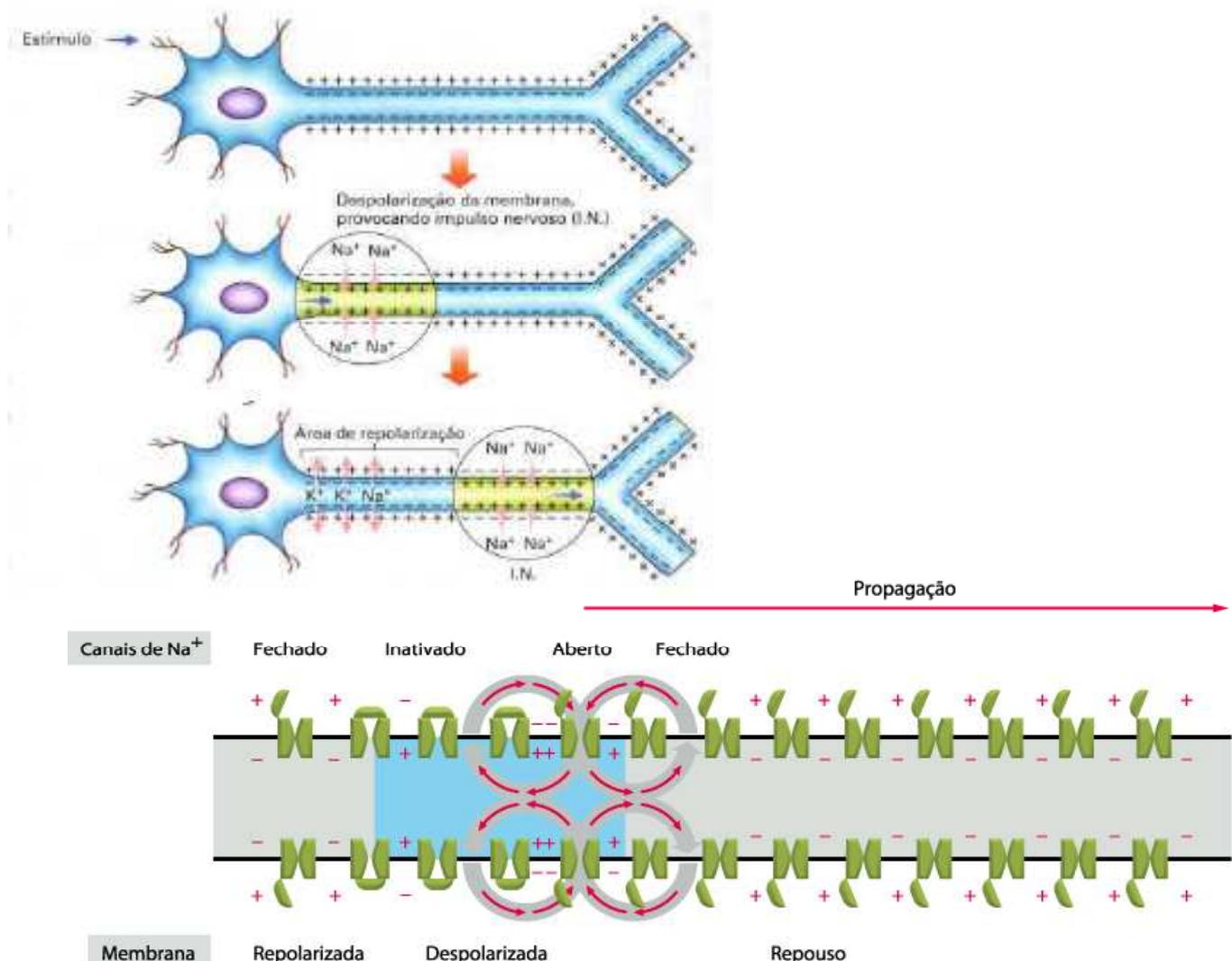
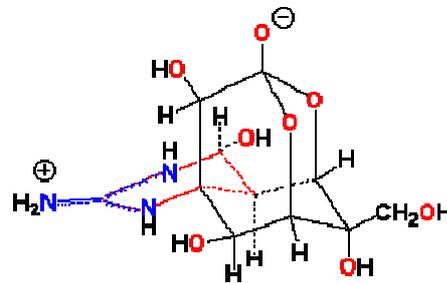
✓ interação do tóxico com canais iônicos de células excitáveis → influência no fluxo de íons → efeitos na transmissão nervosa e/ou contração muscular

### ex.1: canais de Na<sup>+</sup> voltagem dependente:

despolarização da membrana de axônios e potencial de ação\*

#### ➤ Tetrodotoxina (*fugu e baiacu*):

✓ bloqueio de canais de Na<sup>+</sup> na membrana dos axônios impede impulso nervoso e liberação de Ach (placa motora) → fraqueza muscular, paralisia e morte



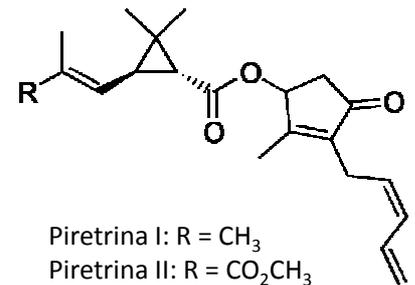
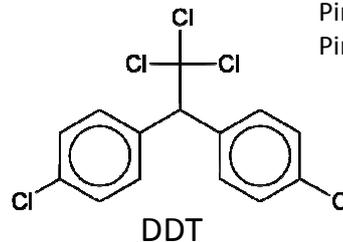
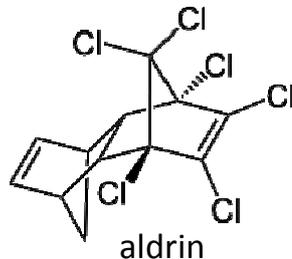
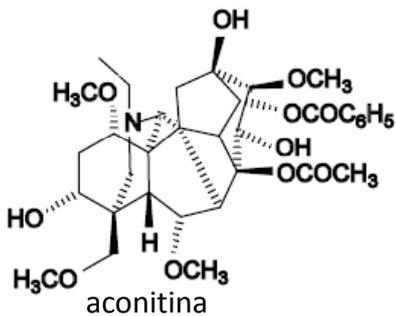
# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## II. Interferência na excitabilidade de membranas

ex.2:

**Batrocotoxina:** veneno de sapo (*Phyllobates aurotaenia*)

- ↑↑ permeabilidade de membrana em repouso a  $\text{Na}^+$
- células hiperexcitáveis → potencial de ação prolongado → despolarização → perda da capacidade excitatória
- efeitos no miocárdio: extra-sístole, arritmias e fibrilação
- mecanismo semelhante: aconitina, piretrinas e inseticidas organoclorados



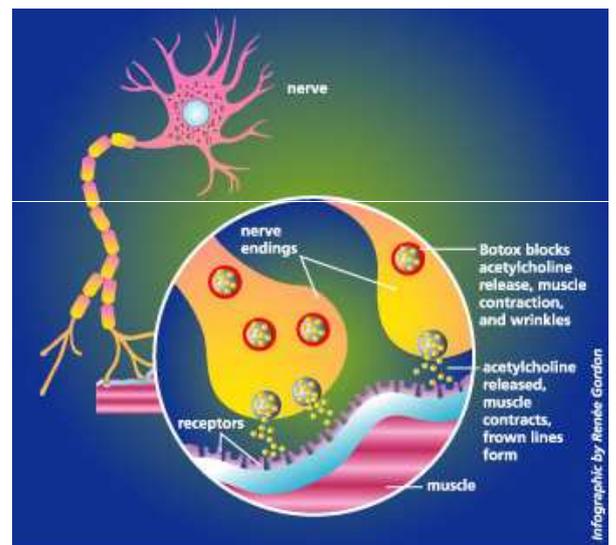
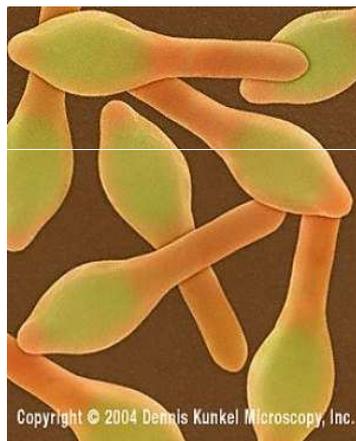
# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## II. Interferência na excitabilidade de membranas

✓ Outros Mecanismos:

➤ **Bloqueio da liberação de Ach no terminal axônico:**

- toxinas botulínicas (*Clostridium botulinum*) → alimentos enlatados
- β-bungarotoxina (veneno da Naja)  
sintomas: paralisia progressiva até parada respiratória, SNA (boca seca, visão turva, dificuldade para engolir)



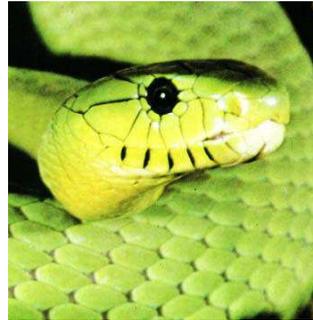
# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## II. Interferência na excitabilidade de membranas

✓ Outros Mecanismos:

### ➤ Interação com canais de K<sup>+</sup> :

- veneno de abelha (apamina)
- veneno de escorpião (caribdotoxina)
- dendrotoxina (serpente mamba verde)



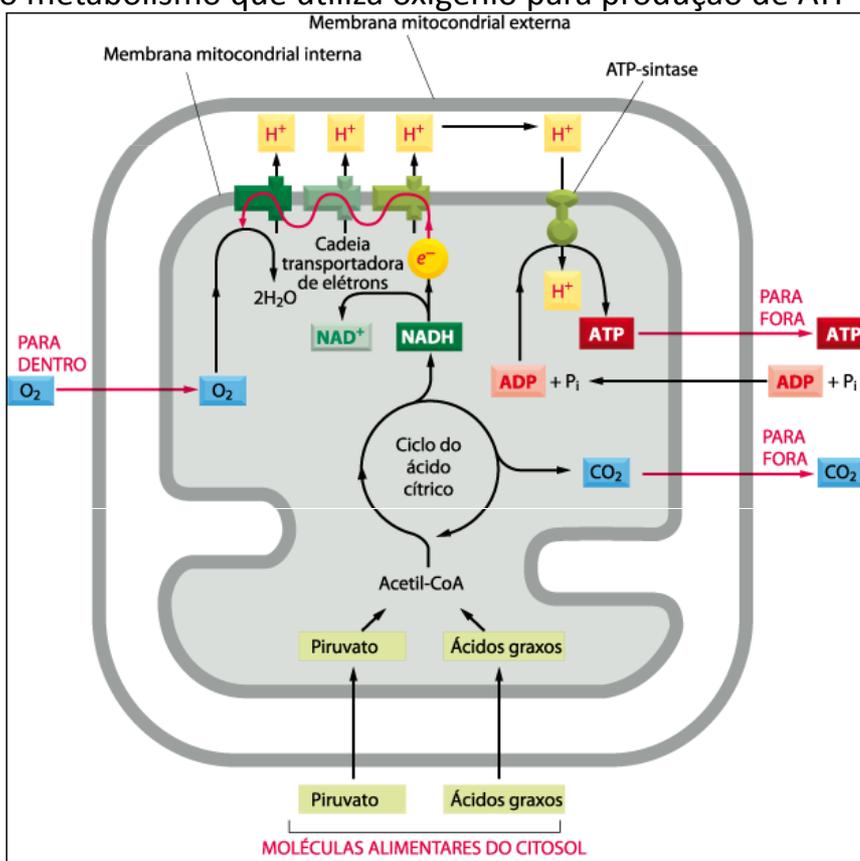
### Solventes orgânicos: (↑lipossolubilidade)

- Efeito: depressão do SNC
- alteram a fluidez da membrana;
- dificuldade na propagação do potencial de ação
- uso crônico de etanol: rigidez de membrana

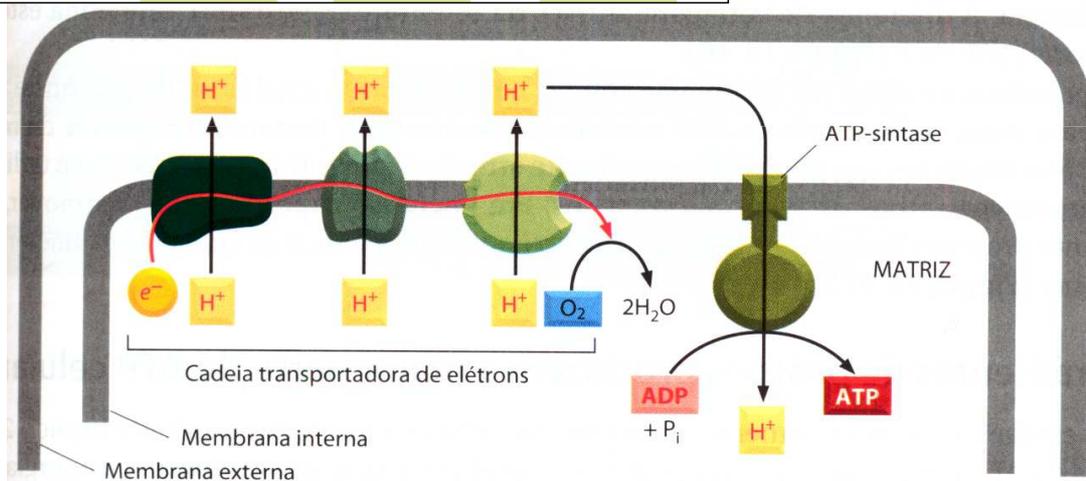
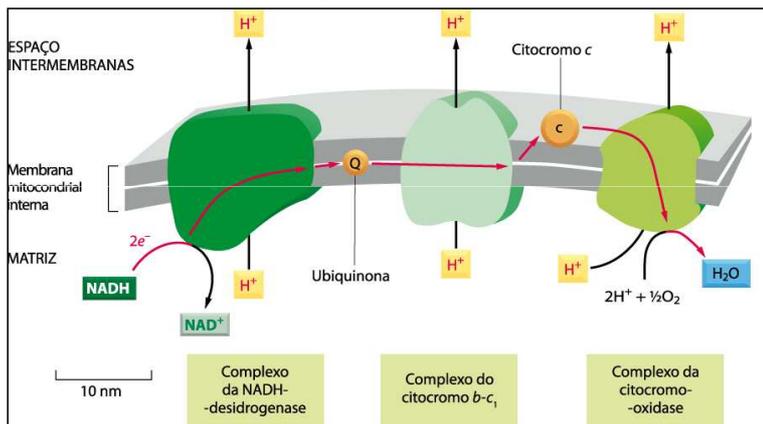
# Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

## III. Inibição da fosforilação oxidativa

• etapa do metabolismo que utiliza oxigênio para produção de ATP



## III. Inibição da fosforilação oxidativa



## III. Inibição da fosforilação oxidativa

### • Diferentes Mecanismos:

#### 1 – Fornecimento insuficiente de oxigênio:

- oxidação do ferro na hemoglobina (metemoglobinizantes); ex.: nitritos
- formação de carboxihemoglobina (CO)

#### 2 - Interferência direta:

- ligação à citocromo oxidase; ex.: cianeto, sulfeto de azida
- interação com complexos proteicos e bloqueio da cadeia transportadora de elétrons; ex.: rotenona, antimicina A
- desacoplamento da fosforilação oxidativa; ex.: nitrofenóis, pentaclorofenol
- inibição da ATP sintase; ex.: oligomicina
- inibição do ciclo de Krebs e formação de NADH; ex.: fluoracetato de sódio

### III. Inibição da fosforilação oxidativa

➤ diminuição de ATP celular – **consequências:**

- integridade de membrana
- funcionamento de bombas (transporte ativo)
- síntese proteica
- desacoplamento aumenta o consumo de oxigênio: maior produção de calor

➤ **sintomas:** febre, estimulação respiratória/circulatória, náusea, sudorese e coma.

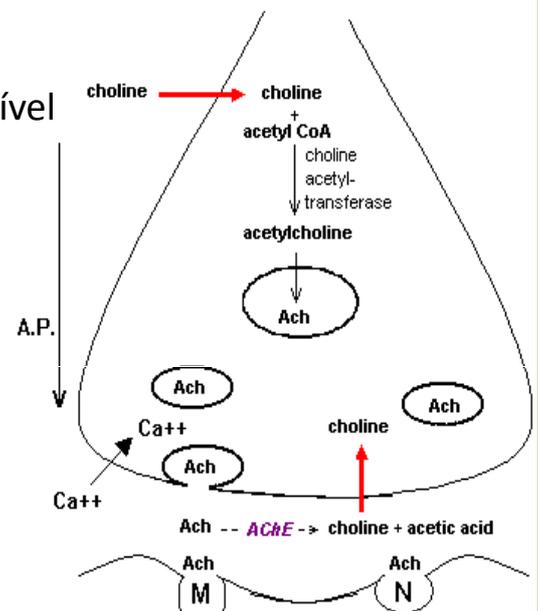
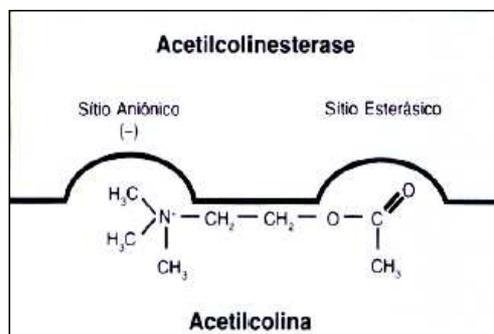
### Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

### IV. Complexação/reação com biomoléculas

#### **a) Enzimas:**

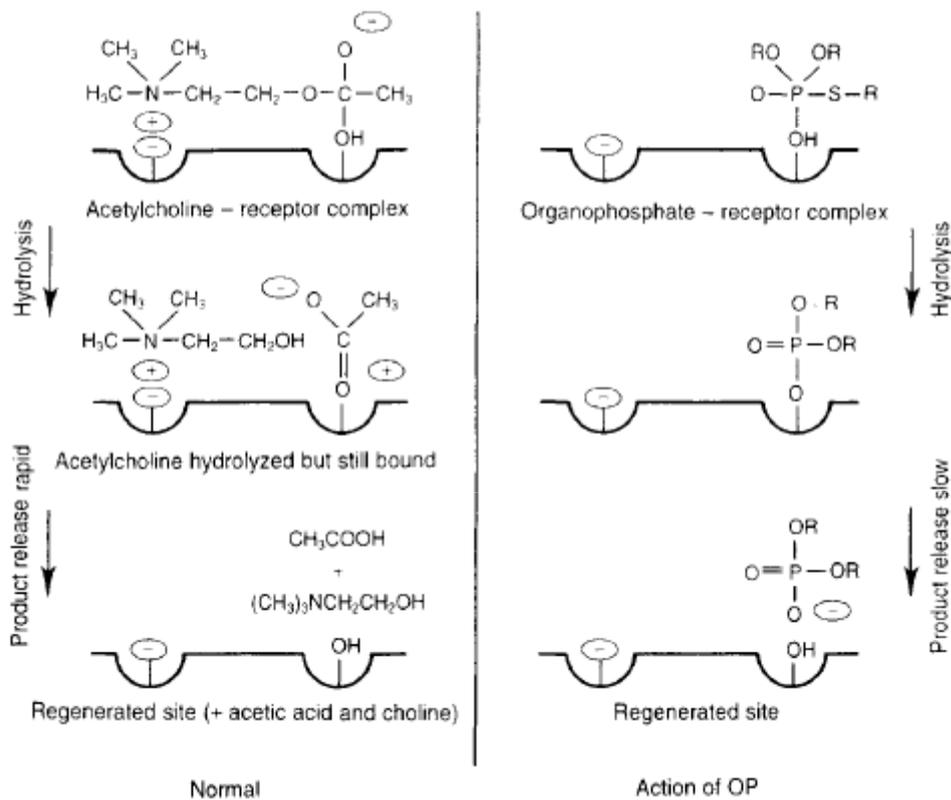
Inibidores enzimáticos – ex.: inseticidas organofosforados (paration), carbamatos

- ✓ organofosforados: inibem de forma irreversível a acetilcolinesterase (ligação a sítio esterásico\*, fosforilando a enzima)
- ✓ carbamatos: inibição competitiva rápida e reversível
  - **Efeito:** reforço do estímulo colinérgico
  - Sintomas neurológicos difusos: miose/midríase, lacrimejamento, visão turva, fotofobia, salivação, bradicardia, paralisia respiratória



## Acetilcolinesterase:

Sítio aniônico e centro esterásico (resíduo de serina)



## Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

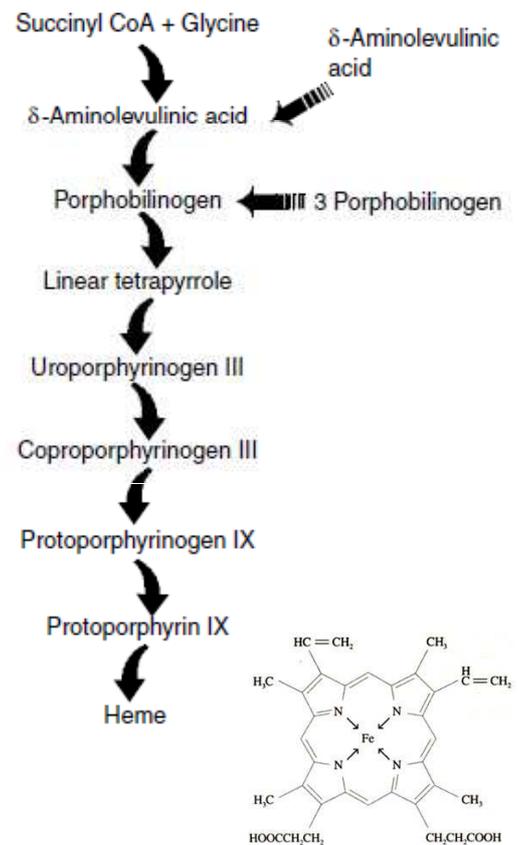
### IV. Complexação/reação com biomoléculas

#### a) Enzimas:

Inibidores enzimáticos – metais, hexaclorobenzenc

#### ✓ Metais:

- Pb, Hg, Cd, As: formam complexos (-SH) que inativam enzimas e outras proteínas
- **Pb, Hg** → inibição específica: síntese do grupo heme (porfirias: manifestações neurológicas agudas, sintomas cutâneos) (**compostos orgânicos**: hexaclorobenzeno, metabólito da fase 1 do TCDD, PCB's e pesticidas)
- **Co, Be, Cd, Pr** → inibição do citocromo P-450: reduz metabolismo de xenobióticos

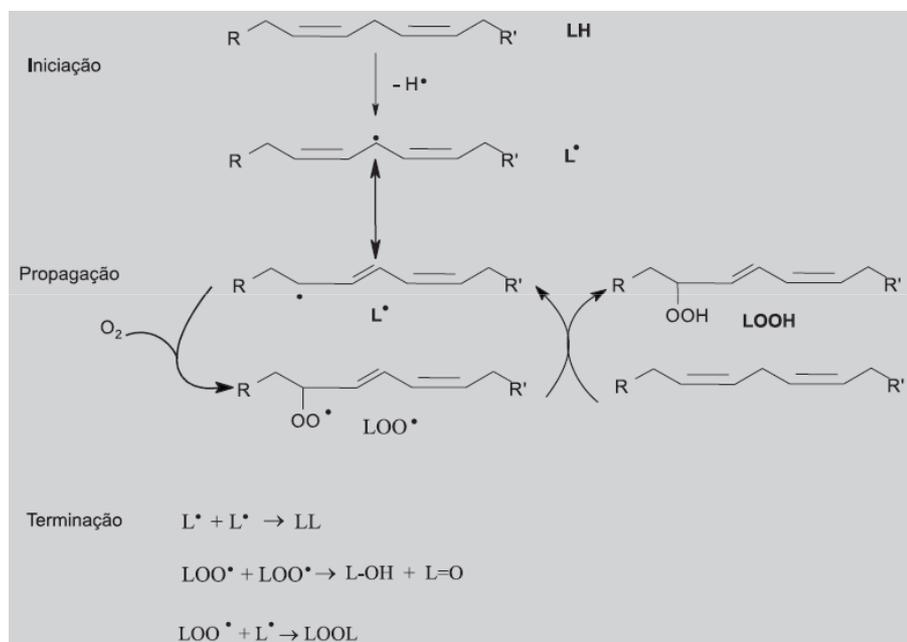


## Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

### IV. Complexação/reação com biomoléculas

#### b) Lipídios:

- peroxidação lipídica: deterioração oxidativa progressiva de ác. graxos poliinsaturados; rompimento de estruturas celulares e necrose tecidual
- ex.: metabólitos eletrofílicos (produtos das reações de Fase 1), radicais livres.



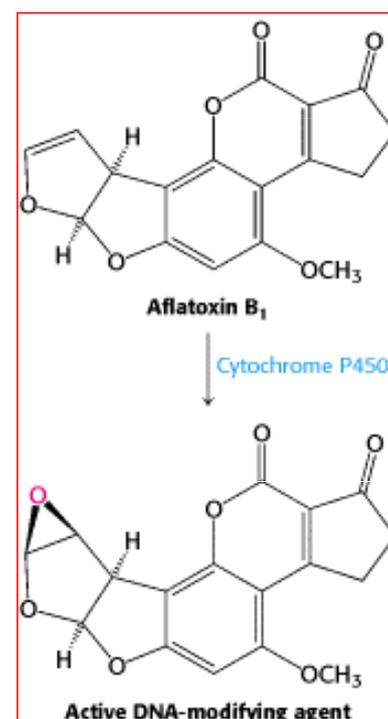
Efeitos observados em exposições crônicas (cumulativos)

## Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

### IV. Complexação/reação com biomoléculas

#### c) Ácidos nucleicos:

- espécies reativas (eletrófilos) podem reagir em vários sítios do DNA: modificação estrutural de nucleotídeos
- ex.: metabólito epóxido da *aflatoxina B1* (hepatotóxico e carcinogênico)
- **Consequências:** alteração da expressão gênica, síntese proteica, morte celular, câncer
- **Mecanismos de reparo:** reversão e manutenção da integridade do DNA (se falhar haverá propagação do gene alterado  $\rightarrow$  mutação)



## Mecanismos gerais de ação de agentes tóxicos

### V. Perturbação da homeostase cálcica:

- bomba de  $\text{Ca}^{2+}$ : concentração citoplasmática é mantida baixa
- função fisiológica do  $\text{Ca}^{2+}$ :
  - mensageiro intracelular em resposta à estímulos endógenos
  - ativação/inativação de enzimas cinases diversas;
  - participa da contração muscular
  - adesão intercelular
- Mecanismos de ação tóxica:
  - canais  $\text{Ca}^{2+}$ : aumento no influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  (meio extracelular ou REL)
  - bomba  $\text{Ca}^{2+}$ : inibição do efluxo pela membrana
  - promove alterações celulares diversas → efeitos dependem do tecido-alvo

Ex.: nitrofenóis, quinonas, peróxidos, dioxinas, alcenos halogenados, íons metálicos, ...

## Interações Toxicológicas

- ✓ exposição a dois (ou mais) toxicantes
  - ✓ interferência no mecanismo de ação um do outro
1. **Efeito Aditivo:** efeito tóxico final = soma dos efeitos separados; ex.: Pb e As (inibição da biossíntese do heme)
  2. **Efeito Sinérgico:** efeito tóxico final >> soma dos efeitos separados;
    - ex.:  $\text{CCl}_4$  e compostos aromáticos (hepatotoxicidade)
  3. **Potenciação:** o efeito de um agente tóxico é aumentado por substância originalmente inócua; ex.: propranolol e  $\text{CCl}_4$  (hepatotoxicidade)
  4. **Antagonismo:** efeito tóxico final << efeito individual
    - tipos:
      - ✓ **Competitivo** (interação com mesmo sítio de ação); ex.: atropina (antagonista da acetilcolina) no tratamento por organofosforados
      - ✓ **Químico** (reação entre antagonista e agente tóxico, com inativação); ex.: EDTA e Pb
      - ✓ **Funcional** (atuam no mesmo sistema fisiológico, com efeitos contrários); ex.: glicosídeos cardiotônicos e bloqueadores  $\alpha$ -adrenérgicos (pressão arterial)