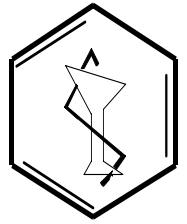




DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS E
TOXICOLÓGICAS

FACULDADE DE FARMÁCIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



TOXICOLOGIA GERAL

Profa. Edna Maria Alvarez Leite
Profa. Leiliane Coelho André Amorim

CONCEITOS BÁSICOS

1) TOXICOLOGIA

A toxicologia se ocupa da natureza e dos mecanismos das lesões tóxicas e da avaliação quantitativa do espectro das alterações biológicas produzidos pela exposição aos agentes químicos.

É a ciência que tem como objeto de estudo o efeito adverso de substâncias químicas sobre os organismos vivos, com a finalidade principal de prevenir o aparecimento deste efeito, ou seja, estabelecer o uso seguro destas substâncias químicas.

A toxicologia se apoia, então, em 3 elementos básicos:

- 1) o agente químico (AQ) capaz de produzir um efeito;
- 2) o sistema biológico (SB) com o qual o AQ irá interagir para produzir o efeito;
- 3) o efeito resultante que deverá ser adverso (ou tóxico) para o SB.

2) ÁREAS DA TOXICOLOGIA

A toxicologia é uma ciência multidisciplinar, que abrange uma vasta área de conhecimento, relacionando-se estritamente com diversas outras ciências, pois sem os conhecimentos interrelacionados, dificilmente poderá atingir seus objetivos: prevenir, diagnosticar e tratar.

A toxicologia é desenvolvida por especialistas com diferentes formações profissionais, oferecendo cada um contribuições específicas em uma ou mais áreas de atividade permitindo assim, o aperfeiçoamento dos conhecimentos e o desenvolvimento das áreas de atuação.

No âmbito da toxicologia, distinguem-se várias áreas, de acordo com a natureza do agente ou a maneira como este alcança o organismo. Destacam-se entre outras:

Toxicologia ambiental: que estuda os efeitos nocivos produzidos pela interação dos contaminantes químicos ambientais com os organismos humanos.

Toxicologia ocupacional: que estuda os efeitos nocivos produzidos pela interação dos contaminantes do ambiente de trabalho, com o indivíduo exposto e o impacto sobre sua saúde.

Toxicologia de alimentos: que estuda os efeitos adversos produzidos por agentes químicos presentes nos alimentos, sejam estes contaminantes ou de origem natural. É a área da toxicologia que estabelece as condições nas quais os alimentos podem ser ingeridos sem causar danos à saúde.

Toxicologia de medicamentos: que estuda os efeitos nocivos produzidos pela interação dos medicamentos com o organismo decorrentes do uso inadequado ou da suscetibilidade individual.

Toxicologia social: estuda os efeitos nocivos dos agentes químicos usados pelo homem em sua vida de sociedade, seja sob o aspecto individual, social (de relação) ou legal.

3) AGENTE TÓXICO (AT)

É qualquer substância química que interagindo com o organismo é capaz de produzir um efeito tóxico, seja este uma alteração funcional ou morte. A maioria das substâncias químicas, consideradas como agentes tóxicos, são substâncias exógenas conhecidas como xenobióticos.

3.1) Classificação dos agentes tóxicos

Os AT podem ser classificados de diversas maneiras dependendo dos critérios utilizados. A seguir são apresentadas classificações quanto às características físicas e químicas, e quanto ao tipo de ação tóxica.

3.1.1) Quanto às características físicas:

➤ Gases: são fluídos sem forma, que permanecem no estado gasoso em condições normais de pressão e temperatura.

Ex.: CO, NO e NO₂, O₃ etc.

➤ Vapores: são as formas gasosas de substâncias normalmente sólidas ou líquidas nas condições ambientais

Ex: vapores resultantes da volatilização de solventes orgânicos como benzeno, tolueno, xileno etc.

➤ Partículas ou aerodispersóides: partículas de tamanho microscópico, em estado sólido ou líquido

Ex: poeiras e fumos; neblinas e névoas

3.1.2) Quanto às características químicas:

Esta classificação se baseia na estrutura química das substâncias que mais se destacam quanto ao interesse toxicológicos

Ex: Halogêneos; Produtos alcalinos; Hidrocarbonetos alifáticos; Hidrocarbonetos aromáticos; Metais; outros

3.1.3) Quanto ao tipo de ação tóxica (ou órgão onde atuam):

Nefrotóxico; Neurotóxico; Hepatotóxico; Outros

4) TOXICIDADE

É a capacidade, inerente a um agente químico, de produzir danos aos organismos vivos, em condições padronizadas de uso. Uma substância muito tóxica causará dano a um organismo se for administrada em quantidades muito pequenas, enquanto que uma substância de baixa toxicidade somente produzirá efeito quando a quantidade administrada for muito grande.

O conhecimento da toxicidade das substâncias químicas se obtém através de experimentos em laboratório utilizando animais. Os métodos são empregados com todo rigor científico com a finalidade de fornecer informações relativas aos efeitos tóxicos e principalmente para avaliar riscos que podem ser extrapolados ao homem.

Os agentes químicos podem ser classificados, segundo HODGES & HAGGARD, em 6 classes de toxicidade, de acordo com os valores de DL₅₀ (Tabela I). Esta classificação é utilizada para consultas rápidas, qualitativas, com finalidade de obter informações relativas à toxicidade intrínseca das substâncias.

A falha desta classificação está no fato dela se basear apenas na toxicidade intrínseca da substância que é um parâmetro extremamente variável, sendo influenciado por uma série de fatores, relacionados principalmente ao agente químico, organismo e à exposição.

Em situações práticas não se deve conhecer somente a toxicidade das substâncias, representadas geralmente pela DL₅₀, pois tão importante como conhecer a toxicidade dos agentes químicos, é conhecer e saber avaliar o risco tóxico de uma substância química.

Tabela I : Classificação Quanto ao Grau de Toxicidade

Categoria de Toxicidade	DL₅₀ – Rata (via Oral)
Extremamente tóxico	< 1mg/kg
Altamente tóxico	1-50 mg/kg
Moderadamente tóxico	50-500 mg/kg
Ligeiramente tóxico	0,5-5 g/kg
Praticamente não tóxico	5-15 g/kg
Relativamente atóxico	> 15 g/kg

4.1) Fatores que influem na toxicidade

4.1.1) Fatores ligados ao agente químico

- Propriedade físico-química (solubilidade, grau de ionização, coeficiente de partição óleo/água, pka, tamanho molecular, estado físico, etc.);
- Impurezas e contaminantes;
- Fatores envolvidos na formulação (veículo, adjuvantes).

4.1.2) Fatores relacionados com o organismo

- Espécie, linhagem, fatores genéticos;
- Fatores imunológicos, estado nutricional, dieta;
- Sexo, estado hormonal, idade, peso corpóreo;
- Estado emocional, estado patológico.

4.1.3) Fatores relacionados com a exposição

- Via de introdução;
- Dose ou concentração;
- Frequência.

4.1.4) Fatores relacionados com o ambiente

- Temperatura, pressão;
- Radiações;
- Outros (luz, umidade, etc.).

5) RISCO E SEGURANÇA

O risco associado à uma substância química se define como a probabilidade de que uma substância produza um efeito adverso, um dano, sob condições específicas de uso.

Nem sempre a substância de maior toxicidade é a de maior risco, ou seja, de maior “perigo” para o homem. Dependendo das condições de uso, uma substância classificada como muito tóxica (elevada toxicidade intrínseca) pode ser menos “perigosa” do que uma pouco tóxica. Existindo um risco associado ao uso de uma substância química, há a necessidade de estabelecer condições de segurança. Portanto define-se como segurança, a certeza prática de que não resultará efeitos adversos para um indivíduo exposto a uma determinada substância em quantidade e forma recomendada de uso. Ou seja, quando fala-se em risco e segurança, significa a possibilidade ou não da ocorrência de uma situação adversa.

Um problema sério, no entanto, é estabelecer o que é um risco aceitável no uso de substância química. Esta decisão é bastante complexa e envolve o binômio risco-benefício, ou seja, altos riscos podem ser aceitáveis no uso das chamadas **life saving drugs**, ou seja, os fármacos essenciais à vida e não serem aceitáveis no uso de aditivos de alimentos, por exemplo.

Na utilização das substâncias químicas para diversos fins, alguns fatores devem ser considerados na determinação de um risco aceitável:

- Necessidade do uso da substância;
- Disponibilidade e a adequação de outras substâncias alternativas para o uso correspondente;
- Efeitos sobre a qualidade do ambiente e conservação dos recursos naturais;
- Considerações sobre o trabalho (no caso dela ser usada à nível ocupacional);

- Avaliação antecipada de seu uso público (ou seja, o que ela poderá causar sobre a população em geral, onde existe por exemplo: crianças, velhos, doentes, etc.);
- Considerações econômicas.

6) INTOXICAÇÃO

É um conjunto de efeitos nocivos representado pelos sinais e sintomas que revelam o desequilíbrio orgânico produzido pela interação do agente químico com o sistema biológico. Corresponde ao estado patológico provocado pelo agente tóxico, em decorrência de sua interação com o organismo.

Logicamente, o efeito tóxico só será produzido, se a interação com o receptor biológico apropriado ocorrer em dose e tempo suficientes para quebrar a homeostasia do organismo. Existem, então, na grande maioria das vezes, uma série de processos envolvidos, desde o contato do agente tóxico com o organismo, até o sintoma clínico que revela esta interação. Isto permite dividir a intoxicação em 4 fases distintas, a saber:

Fase de Exposição: corresponde ao contato do agente tóxico com o organismo. Representa a disponibilidade química das substâncias químicas e passíveis de serem introduzidas no organismo.

Fase Toxicocinética: consiste no movimento do AT dentro do organismo. É formada pelos processos de absorção, distribuição, armazenamento e eliminação (biotransformação e excreção). Todos esses processos envolvem reações mútuas entre o agente tóxico e o organismo, conduzindo à disponibilidade biológica.

Fase Toxicodinâmica: corresponde à ação do AT no organismo. Atingindo o alvo, o agente químico ou seu produto de biotransformação interage biologicamente causando alterações morfológicas e funcionais, produzindo danos.

Fase Clínica: corresponde à manifestação clínica dos efeitos resultantes da ação tóxica. É o aparecimento de sinais e sintomas que caracterizam o efeito tóxico e evidenciam a presença do fenômeno da intoxicação.

7) DISTINÇÃO ENTRE EFEITOS ADVERSOS E NÃO ADVERSOS

O efeito adverso ou “anormal” com frequência é definido em relação à medição que está fora da amplitude “normal”. A amplitude “normal”, por sua vez, se define com base nos valores médios que se tem observado num grupo de indivíduos presumivelmente sãos. No entanto é praticamente impossível, numa população geral, definir valores “normais”, onde se inclui grupos que pode ser especialmente sensíveis aos fatores ambientais, em

especial as pessoas muito jovens e muito idosas, as afetadas por alguma enfermidade e as expostas a outros agentes tóxicos e tensões.

Por isso têm-se procurado formular critérios para determinar efeitos adversos baseados em considerações biológicas e não somente em diferenças estatisticamente significativas em relação a uma população controle.

Sendo assim o efeito não adverso é aquele que não reduz a capacidade funcional nem a capacidade para compensar tensões adicionais. São reversíveis logo após cessar a exposição, sem diminuição detectável da capacidade do organismo para manter a homeostase, e não realçam a suscetibilidade aos efeitos de outras influências ambientais.

Por outro lado, se pode deduzir que os efeitos adversos são alterações biológicas que:

- Ocorrem com uma exposição intermitente ou continuada e que dão lugar à diminuição da capacidade funcional (determinada por parâmetros anatômicos, fisiológicos e bioquímicos ou de comportamento) ou à uma diminuição da capacidade para compensar tensões adicionais;
- São reversíveis durante a exposição ou logo cessada esta, quando tais alterações causam diminuições detectáveis da capacidade do organismo para manter a homeostase; e
- Realçam a suscetibilidade do organismo aos fatores nocivos de outras influências ambientais.

8) EFEITOS TÓXICOS

São os efeitos adversos causados por substâncias químicas. Assim, todo o efeito tóxico é indesejável e nocivo. Mas nem todos efeitos indesejáveis são tóxicos.

8.1) Classificação dos efeitos tóxicos

8.1.1) Efeito idiossincrático

As reações idiossincráticas correspondem às respostas quantitativamente anormais a certos agentes tóxicos, provocados por alterações genéticas. O indivíduo pode ter uma resposta adversa com doses baixas (não-tóxicas) ou então ter uma resposta extremamente intensa com doses mais elevadas. Exemplo: sensibilidade anormal aos nitritos e outros agentes metemoglobinizantes, devido a deficiência, de origem genética, na NADH-metemoglobina redutase.

8.1.2) Efeito alérgico

Reações alérgicas ou alergia química são reações adversas que ocorrem somente após uma prévia sensibilização do organismo ao AT, ou a um produto quimicamente semelhante.

Na primeira exposição, a substância age como um hapteno promovendo a formação dos anticorpos, que em 2 ou 3 semanas estão em concentrações suficientes para produzir reações alérgicas em exposições subsequentes.

Alguns autores não concordam que as alergias químicas sejam efeitos tóxicos, já que elas não obedecem ou apresentam uma relação dose-resposta (elas não são dose dependente). Entretanto, como a alergia química é um efeito indesejável e adverso ao organismo, pode ser reconhecido como efeito tóxico.

8.1.3) Efeito imediato, crônico e retardado

➤ **Efeitos Imediatos ou agudos** são aqueles que aparecem imediatamente após uma exposição aguda, ou seja, exposição única ou que ocorre, no máximo, em 24 horas. Em geral são efeitos intensamente graves.

➤ **Efeitos crônicos** são aqueles resultantes de uma exposição crônica, ou seja, exposição a pequenas doses, durante vários meses ou anos. O efeito crônico pode advir de dois mecanismos:

(a) Somatória ou Acúmulo do Agente Tóxico no Organismo: a velocidade de eliminação é menor que a de absorção, assim ao longo da exposição o AT vai sendo somado no organismo, até alcançar um nível tóxico.

(b) Somatória de Efeitos: ocorre quando o dano causado é irreversível e, portanto, vai sendo aumentado a cada exposição, até atingir um nível detectável; ou, então, quando o dano é reversível, mas o tempo entre cada exposição é insuficiente para que o organismo se recupere totalmente.

➤ **Efeitos retardados** são aqueles que só ocorrem após um período de latência, mesmo quando já não mais existe a exposição. Exemplo: efeitos carcinogênicos que têm uma latência a 20-30 anos.

8.1.4) Efeitos reversíveis e irreversíveis

A manifestação de um ou outro efeito vai depender, principalmente, da capacidade do tecido lesado em se recuperar. Assim, lesões hepáticas são geralmente reversíveis, já que este tecido tem grande capacidade de regeneração, enquanto as lesões no sistema nervoso central (SNC) são geralmente irreversíveis, uma vez que as células nervosas são pouco renovadas.

8.1.5) Efeitos locais e sistêmicos

O efeito local refere-se àquele que ocorre no local do primeiro contato entre o AT e o organismo. Já o sistêmico exige uma absorção e distribuição da substância, de modo a atingir o sítio de ação, onde se encontra o receptor biológico. Existem substâncias que apresentam os dois tipos de efeitos. (ex.: Benzeno, chumbo tetraetila, etc.).

8.1.6) Efeitos resultantes da interação de agentes químicos

O termo interação entre substâncias químicas é utilizado todas as vezes em que uma substância altera o efeito de outra. A interação pode ocorrer durante a fase de exposição, toxicocinética ou toxicodinâmica. Como consequência destas interações podem resultar diferentes tipos de efeitos:

➤ **Adição:** É aquele produzido quando o efeito final de 2 ou mais agentes é quantitativamente é igual à soma dos efeitos produzidos individualmente.

Ex.: Chumbo e arsênio atuando a nível da biossíntese do heme (aumento da excreção urinária da coproporfirina).

➤ **Sinergismo:** Ocorre quando o efeito de 2 ou mais agentes químicos combinados, é maior do que a soma dos efeitos individuais.

Ex.: A hepatotoxicidade, resultante da interação entre tetracloreto de carbono e álcool é muito maior do que aquela produzida pela soma das duas ações em separado, uma vez que o etanol inibi a biotransformação do solvente clorado.

➤ **Potenciação:** Ocorre quando um agente tóxico tem seu efeito aumentado por atuar simultaneamente, com um agente “não tóxico”

Ex.: O isopropanol, que não é hepatotóxico, aumenta excessivamente a hepatotoxicidade do tetracloreto de carbono.

➤ **Antagonismo:** Ocorre quando dois agentes químicos interferem um com a ação do outro, diminuindo o efeito final. É, geralmente, um efeito desejável em toxicologia, já que o dano resultante (se houver) é menor que aquele causado pelas substâncias separadamente. Existem vários tipos de antagonismo:

(a) Antagonismo químico: (também chamado neutralização) ocorre quando o antagonista reage quimicamente com o agonista, inativando-o. Este tipo de antagonismo tem um papel muito importante no tratamento das intoxicações. Ex.: Agentes quelantes como o EDTA, BAL e penicilamina, que seqüestram metais (As, Hg, Pb, etc.) Diminuindo suas ações tóxicas.

(b) Antagonismo funcional: ocorre quando dois agentes produzem efeitos contrários em um mesmo sistema biológico atuando em receptores diferentes. Ex.: Barbitúricos que diminuem a pressão sangüínea, interagindo com a norepinefrina, que produz hipertensão.

(c) Antagonismo não-competitivo, metabólico ou farmacocinético: é quando um fármaco altera a cinética do outro no organismo, de modo que menos AT alcance o sítio de ação ou permaneça menos tempo agindo. Ex.: Bicarbonato de sódio que aumenta a secreção urinária dos barbitúricos; fenobarbital que aumenta a biotransformação do tolueno, diminuindo sua ação tóxica.

(d) Antagonismo competitivo, não-metabólico ou farmacodinâmico: ocorre quando os dois fármacos atuam sobre o mesmo receptor biológico, um antagonizando o efeito do outro. São os chamados bloqueadores e este conceito é usado, com vantagens, no tratamento clínico das intoxicações.

Ex.: Naloxone, no tratamento da intoxicação com opiáceos. Atropina no tratamento da intoxicação por organofosforado ou carbamato.

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA

Todas as substâncias químicas são tóxicas em certas condições de exposição. No entanto, para toda substância deve haver alguma condição de exposição que seja segura no que se refere à Saúde Humana, com a possível exceção dos agentes carcinogênicos e mutagênicos. Ou seja, condições de exposição nas quais as substâncias químicas sejam mantidas abaixo dos níveis máximo permitido. E quando não for possível definir um limite máximo permitido, deve-se evitar a exposição.

Os dados sobre seres humanos relativos à toxicidade das substâncias químicas, obviamente são mais pertinentes para avaliação da segurança que os dados obtidos em animais experimentais. No entanto, as exposições controladas de seres humanos à substâncias perigosas ou potencialmente perigosas vêm-se restringidas por considerações éticas e por isso é necessário confiar na informação obtida por métodos clínicos e epidemiológicos. Todavia, quando esta informação não é disponível, como ocorre com substâncias químicas novas, devem-se obter dados somente mediante os testes de toxicidade realizados com animais.

O grau de confiabilidade com o qual pode-se estimar os riscos para saúde humana baseado nos testes de toxicidade em animais depende da qualidade dos dados, assim como da quantidade e tipos dos testes realizados.

1) CONCEITO

A avaliação toxicológica compreende a análise de dados toxicológicos de uma substância química com o objetivo de classificá-la em categorias toxicológicas, e ao mesmo tempo, fornecer informações à respeito da forma correta e segura de uso, bem como medidas de prevenção e tratamento.

2) PRIORIDADES NA SELEÇÃO DE SUBSTÂNCIAS QUE SE SUBMETERÃO AOS TESTES TOXICOLÓGICOS

A princípio, todas as substâncias químicas novas devem se submeter a uma avaliação de seguridade antes de sua fabricação e venda. Entretanto, devido ao grande número de substâncias químicas que se representa um possível perigo para a saúde humana e a limitação de recursos é necessário dar prioridade à aquelas que são diretamente consumidas pelo homem,

como fármacos, os aditivos alimentares e as que se utilizam amplamente como praguicidas ou produtos domissanitários.

As substâncias químicas industriais que podem estar presentes no meio ambiente geral ou do trabalho ou contaminar outros produtos representam outra categoria de problemas.

A máxima prioridade deve corresponder aos compostos de presumida toxicidade elevada, aguda, crônica ou diferenciada (como a carcinogenicidade) ou de maior persistência no meio ambiente. Isto se aplica também aos compostos que inibem a a desativação metabólica de substâncias químicas, pois podem constituir uma forma mais insidiosa de toxicidade. As substâncias químicas resistentes ao metabolismo, em especial ao metabolismo pela microflora, terão uma elevada persistência ambiental. Muitos compostos halogenados se encontram nesta categoria e, em consequência, deverão Ter algum grau de prioridade. Também interessam os compostos que se acumulam nas cadeias alimentares que se depositam no organismo, por exemplo, o metilmercúrio e o DDT.

Em suma os critérios essenciais para determinação da prioridade para seleção das substâncias químicas que se colocará à prova são os seguintes:

- indicação ou suspeita de perigo para a saúde humana e tipo de gravidade dos efeitos potenciais à saúde.
- grau provável de produção e emprego
- potencial de persistência no meio ambiente
- potencial de acumulação na e no meio ambiente, e
- tipo e magnitude das populações que estarão expostas

A substância química de primeira prioridade para as provas será aquela que se classifique em lugar destacado em virtude de todos estes critérios ou de sua maioria.

3) ALCANCE QUE DEVEM TER OS TESTES DE TOXICIDADE

O alcance das provas de toxicidade necessárias (ou requeridas) dependerá de algumas considerações. Como primeiro passo poderá ser útil realizar uma estimativa aproximada de toxicidade com base na estrutura química e nas propriedades físico-químicas da substâncias e as correlações conhecidas destas variáveis com a atividade biológica. Estas considerações serão úteis para adotar decisões a respeito das medidas de segurança durante os trabalhos de laboratório.

A avaliação preliminar de toxicidade deverá começar quando sintetizam as substâncias químicas na fase de Laboratório de Desenvolvimento de um processo industrial. A avaliação completa das substâncias químicas em questão, tanto a respeito da exposição profissional como da exposição da população geral, e a avaliação de possível contaminação de água, ou dos alimentos, deverão iniciar mais tarde, quando já tem-se resolvido levar adiante a produção. Ou seja, no caso de medicamento, os testes

toxicológicos são realizados após as triagens farmacológicas, uma vez comprovados seus efeitos terapêuticos.

Os dados de toxicidade obtidos durante as etapas de desenvolvimento de um processo tecnológico podem ser fontes de dados a respeito dos perigos sobre a saúde, não somente das matérias primas, mas também de outras substâncias utilizadas ou produzidas, como produtos intermediários, no processo tecnológico. Além disso, a avaliação toxicológica pode facilitar a seleção de um processo tecnológico substitutivo que seja menos nocivo para a saúde.

Na definição de normas ambientais e sanitárias é necessário dar preferência às substâncias químicas que manifestem um grau significativo de toxicidade e constituem um perigo de saúde, as quais serão utilizadas amplamente na Indústria, na agricultura e os produtos de consumo. É importante considerar que, as mudanças e evolução dos processos industriais, a formulação de novas substâncias químicas e as modificações no emprego das substâncias químicas conhecidas podem propor novos e maiores perigos. E isso requer uma constante reavaliação das prioridades.

4) RELAÇÃO DOSE-EFEITO E RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA

Os estudos das alterações causadas pelas substâncias químicas tem por objetivo estabelecer as relações dose-efeito e dose-resposta que fundamentam todas as considerações toxicológicas necessárias para avaliação do risco à saúde.

Os estudos relativos à exposição química objetivando medidas de prevenção dos efeitos nocivos à saúde é necessário existir disponível uma medida quantitativa da relação entre a magnitude da exposição ao agente químico e o tipo e grau de resposta numa população exposta a esse agente. É somente com base nessa relação que se pode, seguramente, permitir uma dose tolerável do agente nocivo, em algum nível acima do zero, de tal modo que uma fração significativa do grupo exposto não experimente um indesejável efeito sobre a saúde

Para uma melhor compreensão da diferença entre os dois tipos de relações, torna-se necessário conceituar dose, efeito e resposta. A expressão **Dose** se emprega para especificar a quantidade de uma substância química administrada, a qual pode não ser idêntica à dose absorvida. Nas exposições ambientais pode-se estimar a dose com base na medição das concentrações ambientais em função do tempo. E a dose nos órgãos e tecidos que interessam, pode-se estimar com base na quantidade administrada ou ingerida; ou na medida da concentração em amostras biológicas. A informação para estimar a dose nos tecidos ou órgãos requer dimensionar os processos de absorção, distribuição, armazenamento, biotransformação e excreção da substância química ou seus metabólitos, em função do tempo.

Quando a ação tóxica se manifesta no local de introdução ou muito próximo deste (por exemplo, a pele) a estimativa da dose no tecido pode ser muito confiável. Entretanto, quando a ação tóxica se manifesta em algum outro sítio distante do primeiro contato (por exemplo células hepáticas), a estimativa da dose toxicologicamente significativa é menos confiável.

O s termos **Efeito** e **Resposta**, muitas vezes podem ser usados como sinônimos para denominar uma alteração biológica, num indivíduo ou numa população em relação à uma exposição ou dose. Contudo, na Toxicologia se diferenciam, utilizando o termo “efeito” para denominar uma alteração biológica e o termo “resposta” para indicar a proporção de uma população que manifesta um efeito definido.

Segundo esta terminologia, a resposta é a taxa de incidência de um efeito. Por exemplo, se pode dizer que o valor de DL_{50} é a dose que causará uma resposta de 50% em uma população em que se estuda o efeito letal de uma substância química.

Alguns efeitos podem ser medidos em uma escala graduada de intensidade ou gravidade, relacionando sua magnitude diretamente com a dose e por isso são denominados Efeitos Graduados. Certos efeitos, no entanto, não permitem gradação e se podem expressar somente dizendo que estão “presentes” ou “ausentes”. Estes efeitos se denominam Efeitos Quânticos, como por exemplo, a morte ou ocorrência de um tumor.

4.1) Curvas Dose-efeito e Dose-resposta

As relações dose-efeito e dose-resposta são representadas pelas curvas correspondentes.

A curva dose-efeito demonstra a relação entre a dose e a magnitude de um efeito graduado, em um indivíduo ou em uma população. Estas curvas podem adotar distintas formas, lineares ou não. Exemplo: relação entre a % de carboxiemoglobina no sangue e a intensidade dos sinais e sintomas da intoxicação.

A curva dose-resposta representa a relação entre a dose e a proporção da população que responde com um efeito quântico. Em geral estas curva são sigmóides. Uma forma de explicar a configuração das curvas dose-resposta é dizer que cada indivíduo de uma população tem uma “tolerância” própria e requer uma certa dose antes de responder com um efeito. A princípio, existem tanto uma dose baixa a qual ninguém responderá como uma dose alta a qual todos responderão. A razão deve-se à variabilidade biológica, isto é, à diferente sensibilidade dos indivíduos (ou animais) à ação de determinada substância química.

É importante mencionar que, para cada efeito haverá, então, uma curva dose-resposta distinta. Além de que a configuração da curva dose-resposta da mesma substância química e a mesma espécie animal pode variar com as mudanças das condições experimentais, por exemplo, as mudanças na forma de distribuição da dose no tempo (frequência).

A curva sigmóide ou em forma de S é uma expressão curvilínea comumente observada na maior parte das curvas dose-resposta. O fundamento biológico desta relação se pode compreender parcialmente quando se pensa na natureza da distribuição de frequência das suscetibilidades ou resistências individuais em uma população. A maior parte das pessoas que compõem uma população responderão próximo a um nível de dose média, sendo poucas as que responderão somente a níveis de dose muito baixos ou muito altos. Isto dá lugar a uma curva de distribuição normal de frequência, geralmente utilizando escala logarítmica de dose, a qual se apresenta como uma distribuição simétrica

A Figura 1 mostra uma distribuição normal de frequência, simétrica em relação ao ponto central. Sua distribuição acumulativa de frequência mostra a curva sigmóide frequentemente observada. Uma relação dose-resposta se apresentará como uma distribuição acumulativa de frequência porque o indivíduo que reage a uma dose baixa também reagirá, naturalmente, à dose mais elevadas. Em consequência, a frequência de indivíduos reativos a uma dose elevada determinada inclui todos aqueles que respondem a essa dose e a todas as doses inferiores.

Figura 1: Relação dose-resposta hipotética como distribuição de frequência e como distribuição acumulativa de frequência

No entanto, a equação matemática correspondente à curva sigmóide é difícil de manusear e, por isso é levada a se transformar em uma linha reta para apresentação e avaliação dos dados. A Figura 2 ilustra essa transformação apresentando tanto a escala porcentual como a escala “probit” (unidade de probabilidade), a qual possibilita a transformação em reta.

Dessa forma curva dose-resposta permite avaliar a resposta da população estudada a partir das doses, às quais 20%, 70%, 84% ou

qualquer outra porcentagem da população reage a um determinado efeito. É comum calcular as doses eficazes em se tratando de um efeito terapêutico, as quais são representadas por DE20, DE50, DE70 etc.. Ao estudar o efeito letal de um agente químico, as doses são representadas como DL20, DL50, etc.. A DL50 constitui um importante parâmetro no estudo da toxicidade de uma substância química determinado por uma relação dose-resposta.

Figura 2: Transformação da curva sigmóide normal (%) em uma linha reta (probito)

Um outro parâmetro importante, além da DL50, é a inclinação da reta. Por exemplo duas substâncias podem ter a mesma DL50, como mostrado na Figura 3, no entanto, qualquer afirmação a respeito da igualdade relativa de toxicidade seria válida somente à essa dose específica. Pois, em doses mais elevadas a substância C seria mais tóxica que a D e em dose mais baixas a substância D seria mais tóxica. Esta figura ilustra também a importância do paralelismo das curvas dose-resposta, como exemplificado pelas substância E e F. Este paralelismo é essencial para a legitimidade das afirmações gerais a respeito da toxicidade relativa das substâncias químicas. Contudo deve-se compreender que as curvas das substância E e F se aplicam somente a um efeito específico e a um conjunto de condições experimentais. As observações da resposta correspondentes a um efeito tóxico distinto ou a administração por um outra via poderá ou não produzir curvas paralelas de dose-resposta para as mesmas substâncias.

As inclinações mais planas como apresentado na Figura 4 pela substância A, indicam fatores tais como uma absorção deficiente, uma excreção ou detoxificação rápida ou efeitos tóxicos que se manifestam algum tempo depois da administração. As inclinações empinadas como representada pela substância B, indicam com frequência uma absorção rápida e rápido começo dos efeitos tóxicos.

Figura 3: Curvas dose-resposta de quatro substâncias químicas

Figura 4: Curvas dose-resposta de duas substâncias químicas

A inclinação da reta pode predizer o perigo de uma substância tóxica, uma vez que ela representa a distância existente entre a dose tóxica mínima e a dose tóxica máxima. Quanto menor esta distância, mais perigosa é a substância e por isso menor a segurança no seu manuseio.

Em relação aos fármacos, além de seu efeito terapêutico, existe a possibilidade do aparecimento de um ou mais efeitos tóxicos. A maneira de avaliar a segurança de um fármaco é comparar a relação dose-resposta

obtida no estudo de um efeito biológico não tóxico ou efeito terapêutico (chamado efeito eficaz) com a relação dose-resposta obtida para o efeito tóxico. Da comparação destas duas relações podem ser obtidos os parâmetros índice terapêutico (IT) e margem de segurança (MS), mostrados na figura 5.

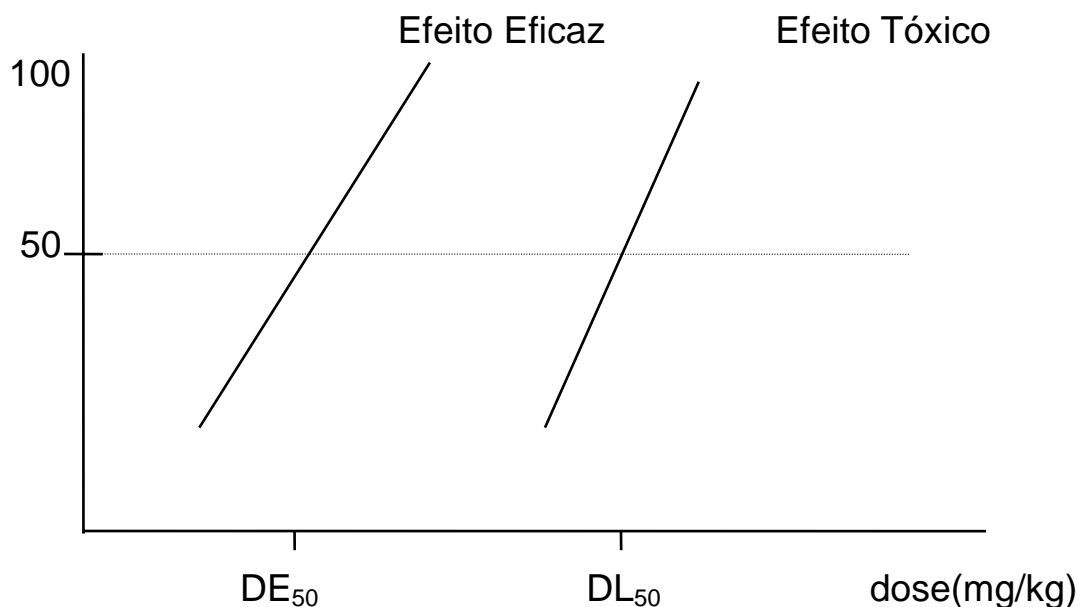


Figura 5: Relação dose-resposta para o efeito eficaz e para o efeito tóxico de um hipotética substância W.

O índice terapêutico (IT) é calculado pela relação:

$$IT = \frac{DL_{50}}{DE_{50}}$$

Onde: DL_{50} é a dose letal para 50% da população analisada e DE_{50} é a dose efetiva para 50% da mesma população.

Quanto maior o IT maior a segurança da substância. A desvantagem deste índice é que para calculá-lo, utiliza-se as doses médias e elas não representam, significativamente, as relações dose-resposta, como demonstrado na Figura 4. Sempre que possível é indicado um outro parâmetro que expressa segurança, qual seja a Margem de Segurança.

A margem de segurança (MS) é calculada pela relação:

$$MS = \frac{DL_1}{DE_{99}}$$

Onde: DL_1 é a dose letal para 1% da população estudada e

DE₉₉ é a dose efetiva para 99% da mesma população.

5) TIPOS DE TESTES DE TOXICIDADE

Para estudar o potencial tóxico de uma substância química é preciso, além de estabelecer uma relação dose-resposta, proceder a realização de outros estudos toxicológicos ou testes de toxicidade. Uma das finalidades dos Testes de toxicidade é fornecer dados que possam ser utilizados para avaliação do risco do uso de substâncias químicas para o Homem e estabelecer limites de segurança na exposição aos agentes químicos.

Após o “episódio” da Talidomida (epidemia de má formação congênita, 1959-1961, em crianças cujas respectivas mães haviam feito uso da talidomida no início da gravidez), as Instituições Governamentais, em diversos países, exigiram um maior rigor na realização dos testes toxicológicos objetivando acabar ou minimizar a ocorrência das chamadas reações adversas aos medicamentos.

Não se tratando de medicamento, estes testes devem ser realizados para cada substância química produzida e comercializada, de acordo com os critérios já vistos anteriormente. Os tipos de testes a serem realizados, podem variar de um país para outro, no entanto devem considerar os principais critérios de avaliação de toxicidade:

- exame anatopatológico (aspectos macro e microscópico)
- peso dos órgãos
- crescimento do animal
- exames fisiológicos
- exames bioquímicos
- estudos do comportamento
- efeito sobre a fertilidade e feto
- DE₅₀ e DL₅₀
- CE₅₀ e CL₅₀

No Brasil, a Resolução 1/78 (D.O. 17/10/78) do Conselho Nacional de Saúde, estabelece 5 tipos de ensaios de toxicidade: Aguda, Sub-aguda, Crônica, teratogênica, embriotoxicidade e estudos especiais (estudos de comportamento, carcinogenicidade e outros)

5.1) Teste de toxicidade aguda

Este estudo é caracterizado pela administração ou exposição da substância química numa dose única (ou múltipla num espaço de 24 horas), utilizando pelo menos duas espécies. A DL₅₀ (e CL₅₀) é a prova mais comum de toxicidade aguda.

Os principais objetivos deste estudo são:

- avaliar a toxicidade intrínseca do Agente Tóxico ou Substância Química.
- avaliar a suscetibilidade das espécies
- identificar órgãos alvo

- promover informações para o delineamento e seleção dos níveis de dose para estudo mais prolongados (toxicidade crônica)

5.2) Testes de toxicidade sub-crônica

O tempo de exposição deste estudo é de 1 a 3 meses. É usado 3 doses experimentais (mínima, intermediária e máxima). Sendo que a dose máxima não deve produzir um índice de letalidade acima de 10% (para que não inviabilize as avaliações histopatológicas e bioquímicas).

Os principais objetivos deste estudo são:

- determinar a dose de nenhum efeito observado – DNEO (que significa a dose máxima na qual não se observa efeito).
- estudar mais efetivamente órgãos alvos e determinar aqueles com mais suscetibilidade.
- prover dados sobre dosagens seletivas para estudo de toxicidade crônica.

5.3) Teste de Toxicidade Crônica

Este estudo é semelhante ao sub-crônico, porém o período de exposição é de 2 anos ou quase toda a vida do animal. Como no teste anterior, este também não procura letalidade e utiliza 3 níveis de dose pela via de administração segundo a via de uso prescrita.

O protocolo experimental compreende as observações e alterações especificadas no estudo de toxicidade sub-crônica e outros parâmetros bioquímicos que permitem uma melhor avaliação de todos os órgãos e funções, principalmente função renal e hepática.

Os principais objetivos deste estudo são:

- verificar níveis máximos de dose das substâncias que não produzem efeitos discerníveis de doença quando administrados durante a maior parte da vida do animal.
- verificar os efeitos tóxicos que não são resultados dos estudos de toxicidade sub-crônica
- procura-se determinar o mecanismo de ação tóxica das substâncias químicas.

5.4) Teste de Carcinogenicidade:

As evidências primárias que podem apontar o potencial carcinogênico das substâncias químicas são de origem epidemiológica ou experimental em roedores. Esses efeitos devem ser observados em pelo menos, duas espécies de animais de laboratório, com uma duração máxima de 130 semanas em ratos, 120 semanas em camundongos e 130 semanas em hamsters. São utilizadas, no mínimo, 2 doses da substância. A maior dose é a dose máxima tolerada (DMT), definida como sendo aquela que não provoca no animal uma perda de peso superior a 10% e não induz

mortalidade ou sinais clínicos de toxicidade. A menor dose corresponde à metade da DMT. Cada grupo experimental é constituído de, pelo menos, 50 animais. Todos animais utilizados no experimento são submetidos à necropsia completa.

A avaliação final do risco de carcinogenicidade para o homem, além das evidências primárias, é obtida pela execução de testes de curta duração (evidências secundárias). Estes testes podem ser agrupados em 3 categorias gerais:

- Testes que detectam lesão do DNA, incluindo o estudo da formação de ligações entre o DNA e os produtos ativos formados na biotransformação do agente tóxico, quebra de fitas, indução de profagos e reparo do DNA
- Testes que evidenciam alterações dos produtos gênicos ou das funções celulares
- Testes que avaliam alterações cromossômicas.

A evidência de carcinogenicidade é considerada limitada nas seguintes situações:

- números reduzidos de experimentos
- impropriedade de dose e vias de administração
- emprego de uma única espécie animal
- duração imprópria do experimento;
- número reduzido de animais e
- dificuldade em diferenciar as neoplasias malignas e benígnas.
-

A evidência inadequada é indicada nas seguintes situações:

- a não exclusão do acaso nos estudos realizados;
- a existência de vícios no delineamento experimental;
- a existência de outros estudos que demonstrem a ausência de carcinogenicidade.

5.5) Teste de Mutagenicidade

Os efeitos mutagênicos das substâncias químicas podem ser avaliados através de ensaios com microorganismos e em organismos superiores, inclusive o homem. Os ensaios com microorganismos, realizados "in vitro", são indicados na triagem rotineira dos agentes tóxicos. Os ensaios com microorganismos avaliam basicamente o dano provocado ao DNA pela substância química estudada ou seu produto de biotransformação

No estudo do potencial mutagênico de um composto, os ensaios com animais de laboratório oferecem grandes vantagens, especialmente a de reproduzir as condições de exposição do homem. Nestes ensaios, as alterações cromossômicas são identificadas na medula óssea do fêmur de ratos e camundongos expostos experimentalmente ao agente tóxico.

5.6) Teste de Teratogenicidade

A avaliação do efeito teratogênico de um composto químico, através de métodos experimentais em animais de laboratório é executada num complexo protocolo envolvendo 3 fases distintas.

A primeira fase tem por objetivo avaliar o potencial tóxico do composto químico sobre a fertilidade e o desempenho reprodutivo. Compreende o tratamento dos animais, machos e fêmeas, durante um período de no mínimo 60 dias antes do acasalamento e, depois, para as fêmeas durante a gestação e lactação. Ao meio termo da gravidez procede-se o sacrifício da metade dos animais do grupo experimental para a constatação de anormalidades uterinas. Ao final, são observados o número, sexo, peso corpóreo e anormalidades externas em todos os filhotes.

Na segunda fase, as informações são obtidas a partir da administração de doses diárias da substância química na dieta de animais fêmeas grávidas no período da organogênese. Neste estudo é feita uma avaliação minuciosa e detalhada da mãe e filhotes.

Os estudos da terceira fase avaliam os efeitos da substância sobre o desenvolvimento peri e pós natal. A administração da substância química é feita durante o período que compreende o último terço da gestação até o desmame. Neste estudo é avaliado o desenvolvimento somático, neuromotor, sensorial e comportamento da prole.

5.7) Testes comportamentais

Devido a uma maior preocupação da população relacionada aos efeitos neurocomportamentais e os poluentes ambientais, o desenvolvimento de testes comportamentais em animais de laboratórios têm alcançado maior relevância.

Temos o exemplo do chumbo, que foi proibida sua adição na gasolina não pela incidência de encefalopatias e sim pelos estudos no comportamento.

Atualmente 25% dos limites de segurança para substâncias químicas derivam de estudos no comportamento.

5.8) Estudos observados no homem

São estudos que se realizam com o devido respeito pelos direitos da dignidade humana e submetidos a códigos de ética específicos estabelecidos por organizações nacionais e internacionais.

EX: O instrumento internacional relativo a essa questão é a Declaração de Helsinque e o artigo 7 do Pacto Internacional de Direitos Civis e Políticos adotados pela Assembleia Geral da ONU em 1966

Estes estudos geralmente estão relacionados à uma simulação de exposição ocupacional à agentes químicos, ou mesmo um estudo clínico desta exposição.

6) EXTRAPOLAÇÃO DOS DADOS TOXICOLÓGICOS

Os testes toxicológicos que utilizam animais de laboratório são realizados em condições rigorosamente padronizadas visando estabelecer os possíveis efeitos tóxicos das substâncias em humanos a partir da extrapolação dos dados encontrados. A finalidade dos Testes Toxicológicos é portanto fornecer dados que possam ser utilizados para avaliação do risco no uso da substância química para o homem e estabelecer Limites de Segurança para a exposição química.

Em muitos casos os estudos com animais permitem prognosticar os efeitos tóxicos das substâncias químicas no homem. Contudo, é importante compreender que os modelos de animais experimentais apresentam limitações e que a exatidão e fidedignidade de uma predição quantitativa de toxicidade no homem dependem de certas condições, como a espécie de animal escolhida, o desenho dos experimentos e os métodos de extrapolação dos dados de animais ao homem.

O problema mais difícil na extrapolação dos dados de animais para o homem é a conversão de uma espécie a outra. Para a maior parte das substâncias químicas a patogênese da intoxicação é idêntica no homem e outros mamíferos, razão pela qual os sinais de intoxicação também são iguais. Conseqüentemente, são mais comuns as diferenças quantitativas na resposta tóxica do que as qualitativas.

Embora o homem possa ser mais sensível que certos animais de laboratório, também há muitos casos nos quais algumas espécies de animais são mais sensíveis que o homem. Por exemplo, o rato é mais sensível à atropina, já o cão tolera a atropina em dose 100 vezes superior a dose letal para o homem. Entretanto o cão é mais sensível que o homem ao ácido cianídrico.

Para estabelecer um limite de exposição para as substâncias químicas a partir de dados experimentais em animais utiliza-se um fator de segurança (FS), afim de resolver as incertezas da extrapolação.

O qual é estabelecido a partir da fórmula:

$$LT = \frac{DNEO}{FS}$$

Em geral, a magnitude do fator de segurança dependerá:

- natureza do efeito tóxico

- tipo e tamanho da população exposta
- quantidade e qualidade dos dados toxicológicos

Um fator de 2 a 5 ou menos pode-se considerar suficiente quando o efeito contra o qual se protege aos indivíduos ou à uma população não se considera muito grave, quando somente um pequeno grupo de trabalhadores está sujeito à uma exposição provável e quando a informação toxicológica se deriva de dados humanos. Por outro lado, pode ser necessário recorrer a um fator de segurança de 1000, ou mais quando o possível efeito é muito grave, quando tem que proteger uma população em geral e quando os dados toxicológicos se derivam de experimentos limitados com animais de laboratório.

Em relação à maior parte dos aditivos alimentares que não se consideram carcinogênicos, aceita-se dividir o DNEO em animais por 100, afim de determinar a Ingestão Diária Aceitável (IDA) no homem. Nos casos dos praguicidas e certas substâncias químicas ambientais se utilizam fatores de segurança que vão de menos de 100 a mais de 1000. Nos casos de algumas exposições ocupacionais e certos contaminantes ambientais são propostos fatores de segurança muito pequenos, como 2 a 5. Também são propostos fatores de segurança para as substâncias carcinogênicas que vão de 100 a 5000.

FASES DA INTOXICAÇÃO

Desde o momento em que o agente químico entra em contato com o agente biológico, até o momento em que a intoxicação é visualizada através dos sinais e sintomas clínicos, ocorrem uma série de etapas metabólicas que compõem a chamada Fases da Intoxicação que são quatro:

- Fase de Exposição,
- Fase Toxicocinética
- Fase Toxicodinâmica
- Fase Clínica

É essencial lembrar que:

⇒ Mais do que da dose administrada, a resposta é função da concentração do AT que interage com o receptor biológico; e que, a concentração do AT no sítio de ação é dependente das duas primeiras fases da intoxicação.

1) FASE DE EXPOSIÇÃO

Exposição é a medida do contato entre o AT e a superfície corpórea do organismo e sua intensidade depende de fatores, tais como:

➤ **Via ou local de exposição**

As principais vias de exposição, através das quais os AT são introduzidos no organismo são:

- via gastrointestinal (ingestão)
- via pulmonar (inalação)
- via cutânea (contato)

Embora não tão importante para a Toxicologia como estas três, existe também a via parenteral. A via de introdução influi tanto na potência quanto na velocidade de aparecimento do efeito tóxico. A ordem decrescente de eficiência destas vias é: via endovenosa > pulmonar > intraperitoneal > subcutânea > intra muscular > intra-dérmica > oral, cutânea.

Estas vias ganham maior ou menor importância, de acordo com a área da Toxicologia em estudo. Assim, a via pulmonar e a cutânea são as mais importantes na Toxicologia Ambiental e Ocupacional, a via gastrointestinal na Toxicologia de Alimentos, de Medicamentos, em casos de suicídios e homicídios, e a via parenteral tem certa importância na Toxicologia Social e de Medicamentos (Farmacotoxicologia).

➤ **Duração e frequência da exposição**

A duração de uma exposição é importante na determinação do efeito tóxico, assim como na intensidade destes. Geralmente a exposição pode ser classificada, quanto à duração em:

- exposição aguda: exposição única ou múltipla que ocorra em um período máximo de 24 horas
- exposição sub-aguda: aquela que ocorre durante algumas semanas (1 mês ou mais)
- exposição sub-crônica: aquela que ocorre durante alguns meses (geralmente por 3 meses)
- exposição crônica: ocorre durante toda a vida.

Quanto à frequência da exposição observa-se que, geralmente, doses ou concentrações fracionadas podem reduzir o efeito tóxico, caso a duração da exposição não seja aumentada. Assim, uma dose única de um agente que produz efeito imediato e severo, poderá produzir menos do que a metade ou nenhum efeito, quando dividida em duas ou mais doses, administradas durante um período de várias horas ou dias. No entanto, é importante ressaltar que a redução do efeito provocado pelo aumento de frequência (ou seja, do fracionamento da dose) só ocorrerá quando:

- a velocidade de eliminação é maior do que a de absorção, de modo que os processos de biotransformação e/ou excreção ocorram no espaço entre duas exposições;
- o efeito tóxico pela substância é parcial ou totalmente revertido antes da exposição seguinte.

Se nenhuma destas situações ocorrerem, o aumento de frequência resultará em efeitos tóxicos crônicos.

2) FASE TOXICOCINÉTICA

Nesta fase tem-se a ação do organismo sobre o agente tóxico, procurando diminuir ou impedir a ação nociva da substância sobre ele. É de grande importância, porque dela resulta a quantidade de AT disponível para reagir com o receptor biológico e, conseqüentemente, exercer a ação tóxica.

A fase toxicocinética é constituída dos seguintes processos:

- absorção
- distribuição
- eliminação: biotransformação e excreção

Pode-se notar que nesta fase o agente tóxico deverá se movimentar pelo organismo e para tal terá que, freqüentemente, transpor membranas biológicas. Assim, é muito importante o conhecimento dos fatores que influem no transporte das substâncias químicas pelas membranas.

2.1) Fatores que influem no transporte por membranas

Estes fatores podem ser agrupados em duas classes distintas:

➤ Fatores relacionados com a membrana

- Estrutura da membrana
- Espessura da membrana
- Área da membrana

Destes 3 fatores, destaca-se a estrutura da membrana. Sabe-se que a membrana biológica é constituída de camada lipídica bimolecular, contendo em ambos os lados, moléculas de proteínas que penetram e às vezes transpõem esta camada. Os ácidos graxos presentes na camada lipídica não possuem uma estrutura cristalina rígida, ao contrário, na temperatura fisiológica eles tem características quase fluídas. Portanto, o caráter fluído das membranas (e portanto sua permeabilidade) é determinado principalmente pela estrutura e proporção relativa de ácidos graxos insaturados presentes na região. Este modelo denominado de “mosaico fluído”, foi proposto por SINGER & NICOLSON em 1972 e é o mais aceito atualmente.

➤ Fatores relacionados com a substância química

Lipossolubilidade:

Devido à constituição lipoprotéica das membranas biológicas, as substâncias químicas lipossolúveis, ou seja, apolares, terão capacidade de transpor-las facilmente, pelo processo de difusão passiva. Já as substâncias hidrossolúveis não transporão estas membranas, a não ser que tenham pequeno tamanho molecular e possam ser filtradas, através dos poros aquosos.

Coeficiente de partição óleo/água:

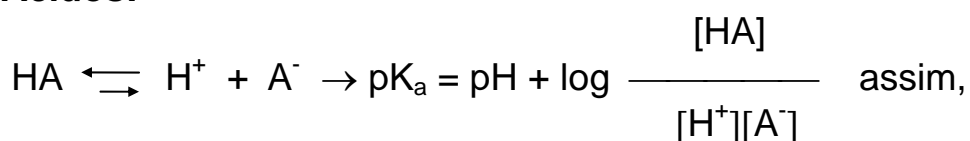
É o parâmetro que permite avaliar o grau de lipossolubilidade das substâncias químicas. Este coeficiente é obtido ao se agitar um agente químico em uma mistura de solvente orgânico e água (em condições de pH e temperatura controladas). As substâncias polares, hidrossolúveis, se concentram na fase aquosa e as apolares, lipossolúveis, na fase orgânica. Quanto maior for a concentração da substância na fase orgânica, maior será a sua lipossolubilidade. Ex.: coeficiente de partição n-octanol/água a 37° C e pH 7,4 de algumas substâncias:

- * clorpromazina = 79,7;
- * AAS = 11,7;
- * paracetamol = 1,79.

Grau de ionização ou de dissociação:

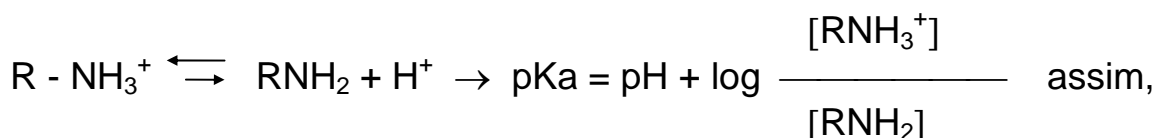
A maioria dos agentes tóxicos são ácidos fracos ou bases fracas que possuem um ou mais grupos funcionais capazes de se ionizarem. A extensão desta ionização dependerá do pH do meio em que a substância está presente e do seu próprio pKa. É importante lembrar que a forma ionizada é polar, hidrossolúvel e com pouca ou nenhuma capacidade de transpor membranas por difusão passiva. O grau de ionização das substâncias, em diferentes pH, poderá ser obtido através da aplicação da fórmula de Henderson-Hasselbach, para ácidos fracos e bases fracas.

Ácidos:



$$\frac{[\text{HA}]}{[\text{H}^+][\text{A}^-]} = 10^{\text{pK}_a - \text{pH}}$$

Bases:



$$\frac{[\text{RNH}_3^+]}{[\text{RNH}_2]} = 10^{\text{pK}_a - \text{pH}}$$

Quando o pH do meio é igual ao pKa de um composto, a metade deste estará na forma ionizada e a outra metade na forma não-ionizada. Importante ressaltar que o pKa sozinho não indica se um composto tem caráter ácido ou básico, já que os ácidos fracos tem pKa elevado, mas as bases fortes também o tem. Da mesma maneira os ácidos fortes tem pKa baixo assim como as bases fracas.

2.2) Absorção

É a passagem do AT do meio externo para o meio interno, atravessando membranas biológicas. O meio externo na absorção pode ser o estômago, os alvéolos, o intestino, ou seja, dentro do organismo, mas fora do sangue. Existem três tipos de absorção mais importantes para a Toxicologia.

2.2.1) Absorção pelo trato gastrintestinal (TGI) ou Oral

Uma vez no TGI, um agente tóxico poderá sofrer absorção desde a boca até o reto, geralmente pelo processo de difusão passiva. São poucas as substâncias que sofrem a absorção na mucosa bucal, principalmente porque o tempo de contato é pequeno no local. Estudos feitos experimentalmente, no entanto, mostram que cocaína, estricnina, atropina e vários opióides podem sofrer absorção na mucosa bucal. Esta absorção é dependente, principalmente, do coeficiente de partição óleo/água (quanto maior este coeficiente mais fácil a absorção) e resulta em níveis sanguíneos elevados, já que as substâncias não sofrerão a ação dos sucos gastrintestinais.

Não sendo absorvido na mucosa bucal, o AT tenderá a sofrer absorção na parte do TGI onde existir a maior quantidade de sua forma não-ionizada (lipossolúvel). Para se conhecer a fração de AT não ionizado, ou aquela apta a sofrer absorção por difusão passiva, é importante a utilização da fórmula de Handerson-Hasselbach. De maneira geral, os ácidos fracos não se ionizam em meio ácido, como o do estômago, sendo assim absorvidos na mucosa gástrica, enquanto as bases fracas por não se ionizarem no pH intestinal, serão absorvidas no local. Exemplo: salicilatos e barbitúricos são absorvidos, principalmente, no estômago e aminopirina, quinina, anilina, serão absorvidos no intestino.

Embora a grande maioria dos AT sofram absorção no TGI por difusão passiva, existem alguns que serão absorvidos por processo especial, mais precisamente por transporte ativo. Exemplo: o chumbo é absorvido por transporte ativo e utiliza o sistema que transporta o cálcio; o tálio é transportado pelo sistema carregador responsável pela absorção de Fe, etc.

➤ Fatores que influem na absorção pelo TGI

Além das propriedades físico-químicas dos AT, outros fatores poderão influir na absorção:

- administração de EDTA: parece que este quelante altera a permeabilidade da membrana, por seqüestrar o cálcio presente na sua estrutura, facilitando assim, de maneira inespecífica, a absorção de ácidos, bases e substâncias neutras. Existe sempre entretanto, no caso da ingestão de

minerais, a possibilidade do EDTA quelar o AT, o que resultaria em uma menor absorção do mesmo

- conteúdo estomacal: a absorção será favorecida se o estômago estiver vazio, devido ao maior contato do AT com a mucosa.
- secreções gastrintestinais, sua concentração enzimática, e sua acidez: estes sucos digestivos, seja por sua acidez iônica, seja por ação enzimática, podem provocar mudanças na atividade ou na estrutura química do agente, alterando assim a velocidade de absorção. Ex.: sabe-se que o pH estomacal das crianças não é tão ácido como o dos adultos. Isto implica em um desenvolvimento maior de microorganismos, principalmente *Encherichia coli*, microorganismo que reduz, no estômago, o nitrato à nitrito. Como as crianças possuem dietas ricas em nitratos, estes serão reduzidos a nitritos que são rapidamente absorvidos pela mucosa estomacal, causando, então, metemoglobinemia.
- mobilidade intestinal: o aumento da mobilidade intestinal diminuirá o tempo de contato do agente tóxico com a mucosa e, conseqüentemente, a absorção neste local.
- efeito de primeira passagem pelo fígado: as substâncias absorvidas no TGI entram na circulação porta e passam pelo fígado, podendo ser biotransformadas de maneira mais ou menos intensa. Através da secreção biliar serão excretadas no intestino, donde serão reabsorvidas ou excretadas pelas fezes. É o também chamado de ciclo entero-hepático. Este efeito pode ser responsável pela menor biodisponibilidade de algumas substâncias, quando estas são administradas por via oral.

Tabela 1: Diferenças fisiológicas entre homens e mulheres que podem afetar a absorção de agentes tóxicos pelo TGI

Parâmetro	Diferença fisiológica	Diferença na absorção
pH suco gástrico	gestante>mulher>homem	altera absorção oral
motilidade intestinal	< nas gestantes	> absorção
esvaziamento gástrico	prolongado nas gestantes	> absorção

Alguns dos fatores que influem na absorção pelo TGI podem variar de acordo com o sexo e, no sexo feminino, entre as gestantes e não gestantes. Este fato é importante na avaliação da intensidade de absorção de

xenobióticos por essa via. A tabela 1 mostra as principais diferenças fisiológicas existentes entre homens e mulheres, gestantes e não gestantes, que podem influenciar a absorção pelo TGI.

2.2.2) Absorção Cutânea

A pele íntegra é uma barreira efetiva contra a penetração de substâncias químicas exógenas. No entanto, alguns xenobióticos podem sofrer absorção cutânea, dependendo de fatores tais como a anatomia e as propriedades fisiológicas da pele e propriedades físico-químicas dos agentes.

A pele é formada por duas camadas, a saber: epiderme e derme. A epiderme, que é a camada mais externa da pele é constituída por cinco regiões distintas:

região córnea: possui duas sub-camadas, o extrato córneo descontínuo (mais superficial) e o extrato córneo contínuo. Esta região é constituída de células biologicamente inativas, que são continuamente renovadas (geralmente a cada 2 semanas no adulto), sendo substituídas por células provenientes das regiões mais profundas da epiderme. Durante esta migração para a superfície, as células sofrem um processo de desidratação e de polimerização do material intracelular, que resulta na queratinização celular, ou seja, na formação de proteína filamentosa denominada queratina.

região gordurosa: é constituída de lípidos provenientes, principalmente, da ruptura de lipoproteínas durante o processo de queratinização.

região lúcida: constituída de células vivas em fase inicial de queratinização.

região germinativa: local onde ocorre a formação das células da epiderme e também da melanina.

Na derme, que é formada por tecido conjuntivo, pode-se observar a presença de vasos sangüíneos, nervos, folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas. Estes três últimos elementos da derme permitem o contato direto com o meio externo, embora não existem dados que demonstrem haver absorção através das glândulas citadas.

As substâncias químicas podem ser absorvidas, principalmente, através das células epidérmicas ou folículos pilosos:

➤ Absorção transepidérmica:

A absorção dos agentes químicos pela pele tem sua velocidade limitada pela região córnea da epiderme, mais precisamente pelo extrato córneo contínuo. As substâncias lipossolúveis penetram por difusão passiva através dos lípidos existentes entre os filamentos de queratina, sendo a velocidade desta absorção indiretamente proporcional à viscosidade e volatilidade do agente. Já as substâncias polares, de baixo peso molecular, penetram

através da superfície externa do filamento de queratina, no extrato hidratado. A absorção transepidérmica é o tipo de absorção cutânea mais freqüente, devido ao elevado número de células epidérmicas existente, embora não seja uma penetração muito fácil para os AT.

➤ **Absorção transfolicular**



O número de folículos pilosos varia de 40 a 800 por cm^2 , o que representa apenas 0,1 a 1% da superfície total da pele. Sendo assim, esta absorção não é tão significativa quanto a transepidérmica. Algumas substâncias químicas podem penetrar pelos folículos pilosos, alcançando rapidamente a derme. É uma penetração fácil para os agentes químicos, uma vez que eles não necessitam cruzar a região córnea. Qualquer tipo de substância química, seja ela lipo ou hidrossolúvel, ionizada ou não, gás ou vapor, ácida ou básica, pode penetrar pelos folículos. É uma absorção também importante para alguns metais.

➤ **Fatores que influem na absorção cutânea**

São vários os fatores que podem influir na absorção através da pele. Geralmente eles são agrupados em quatro classes diferentes:

- Fatores ligados ao organismo:
 - ⇒ Superfície corpórea: a superfície corpórea total no homem é maior do que na mulher (média de 1,70 a 1,77 m^2 no homem e de 1,64 a 1,73 m^2 na mulher). Este fato pode aumentar a absorção transepidérmica no homem (maior superfície de contato com o xenobiótico).
 - ⇒ Volume total de água corpórea: Quanto maior o volume aquoso corpóreo, maior a hidratação da pele e conseqüentemente, a absorção pela pele. Quando comparado à mulher, o homem possui maior volume aquoso total, extra e intracelular o que favoreceria a absorção cutânea. Este fato deve ser considerado, também, quando se compara mulheres grávidas e não grávidas. As gestantes apresentam maior volume aquoso corpóreo e, em conseqüência, maior hidratação do extrato córneo. Isto possibilita maior absorção cutânea de xenobióticos.
 - ⇒ Abrasão da pele: com a descontinuidade da pele, a penetração torna-se fácil;
 - ⇒ Fluxo sanguíneo através da pele: estudos demonstram que, em média, 5% do sangue bombeado pelo coração passa pela pele, em um fluxo em torno de 120 mL/kg/min. Inflamação ou fatores que levam à hiperemia aumentarão a absorção cutânea. Um

fato a ser considerado é a gravidez. Durante a gestação ocorre alterações significativas no fluxo sanguíneo das mãos (aumentam 6 vezes) e pés (aumentam 2 vezes). Esse aumento no fluxo sanguíneo poderá influir na absorção cutânea de xenobióticos nas gestantes expostas. Não foi detectada diferença entre o fluxo sanguíneo cutâneo de homens e mulheres não gestantes. Um fator a ser considerado é a vascularização das áreas expostas, uma vez que, quanto mais vascularizada a região, maior o fluxo sanguíneo no local.

- ⇒ Queimaduras químicas e/ou térmicas: apenas as leves ou moderadas, já que as severas destroem totalmente o tecido, formando uma crosta de difícil penetração;
- ⇒ Pilosidade: nas áreas em que existem pêlos, a absorção cutânea pode ser 3,5 a 13 vezes maior do que nas regiões glabras;

- Fatores ligados ao agente químico:

- ⇒ Volatilidade e viscosidade;
- ⇒ Grau de ionização;
- ⇒ Tamanho molecular.

- Fatores ligados à presença de outras substâncias na pele:

- ⇒ Vasoconstritores: estes vão reduzir a absorção cutânea, devido à diminuição da circulação sanguínea.
- ⇒ Veículos: podem auxiliar na absorção, mas não promovem a penetração de substâncias que, normalmente, não seriam absorvidas pela pele íntegra. Alguns veículos podem, também, absorver o ar de dentro dos folículos e da mesma maneira aumentar a absorção transfolicular.
- ⇒ Água: a pele tem normalmente 90 g de água por grama de tecido seco. Isto faz com que a sua permeabilidade seja 10 vezes maior do que aquela do extrato totalmente seco. O contato prolongado com água pode aumentar a hidratação da pele em 3 a 5 vezes, o que resultará em um aumento na permeabilidade cutânea em até 3 vezes.
- ⇒ Agentes tenso-ativos: os sabões e detergentes são substâncias bastante nocivas para a pele. Eles provocam alteração na permeabilidade cutânea, mesmo quando presentes em pequenas concentrações. Alteram principalmente a absorção de substâncias hidrossolúveis, devido a modificações que provocam na estrutura do filamento de queratina. Estes agentes tensoativos se ligam à queratina e com isto provocam a sua reversão de α para β hélice.

⇒ Solventes orgânicos: estes aumentam a absorção cutânea para qualquer tipo de agente químicos, pois removem lípidos e lipoproteínas presentes no extrato córneo, tornando-o poroso e menos seletivo. Os solventes mais nocivos são aqueles com características hidro e lipossolúveis. Destaca-se, como um dos mais nocivos, a mistura clorofórmio: metanol (2:1).

- Fatores ligados às condições de trabalho (quando se tratar de exposição ocupacional):
 - ⇒ tempo de exposição;
 - ⇒ temperatura do local de trabalho: pode haver um aumento de 1,4 a 3 vezes na velocidade de penetração cutânea de agentes químicos, para cada 10°C de aumento na temperatura.

Como citado anteriormente, o sexo e o estado gestacional podem alterar parâmetros fisiológicos importantes e, conseqüentemente, a intensidade da absorção cutânea (Tabela 2).

Tabela 2: Diferenças fisiológicas entre homens e mulheres que podem afetar a absorção de agentes tóxicos pela pele.

Parâmetro	Diferença fisiológica	Diferença na absorção
hidratação cutânea	> nas gestantes	> absorção
área dérmica	> na superfície corpórea homem	> absorção
espessura dérmica	> no homem	< absorção
fluxo de sangue/pele	> nas gestantes	> absorção

➤ Ação dos agentes tóxicos sobre a pele

No contato dos agentes químicos com a pele podem ocorrer:

- Efeito nocivo local sem ocorrer absorção cutânea. Ex.: ácidos e bases fortes.
- Efeito nocivo local e sistêmico. Ex.: o arsênio, benzeno, etc.
- Efeito nocivo sistêmico, sem causar danos no local de absorção: é o caso, por exemplo, dos inseticidas carbamatos (exceção feita ao Temik que é um carbamato com potente ação local).

2.2.3) Absorção pelo trato pulmonar

A via respiratória é a via de maior importância para Toxicologia Ocupacional. A grande maioria das intoxicações Ocupacionais são decorrentes da aspiração de substâncias contidas no ar ambiental. A superfície pulmonar total é de aproximadamente 90 m², a superfície alveolar de 50 a 100 m² e o total de área capilar é cerca de 140 m². O fluxo sanguíneo contínuo exerce uma ação de dissolução muito boa e muitos agentes químicos podem ser absorvidos rapidamente a partir dos pulmões.

Os agentes passíveis de sofrerem absorção pulmonar são os gases e vapores e os aerodispersóides. Estas substâncias poderão sofrer absorção, tanto nas vias aéreas superiores, quanto nos alvéolos.

2.2.3.1) Gases e Vapores

➤ Vias Aéreas Superiores (VAS)

Geralmente não é dada muita atenção para a absorção destes compostos nas vias aéreas superiores. Deve-se considerar, no entanto, que muitas vezes a substância pode ser absorvida na mucosa nasal, evitando sua penetração até os alvéolos. A retenção parcial ou total dos agentes no trato respiratório superior, está ligada à hidrossolubilidade da substância. Quanto maior a sua solubilidade em água, maior será a tendência de ser retido no local. Visto sob este ângulo, a umidade constante das mucosas que revestem estas vias, constitui um fator favorável. Há, no entanto, a possibilidade da ocorrência de hidrólise química, originando compostos nocivos, tanto para as vias aéreas superiores quanto para os alvéolos. Ex.: tricloreto de fósforo + H₂O → HCl + CO₂; dióxido de enxofre (SO₂) + H₂O → → → ácido sulfúrico.

Isto é importante porque estes produtos formados, além dos efeitos irritantes, favorecem também a absorção deles ou de outros agentes pela mucosa já lesada. Assim, nem sempre, a retenção de gases e vapores nas vias aéreas superiores é sinônimo de proteção contra eventuais efeitos tóxicos.

➤ Alvéolos

Nos alvéolos pulmonares duas fases estão em contato:

- uma gasosa formada pelo ar alveolar; e
- outra líquida representada pelo sangue.

As 2 fases são separadas por uma barreira dupla: o epitélio alveolar e o endotélio capilar. Diante de um gás ou de um vapor, o sangue pode se comportar de duas maneiras diferentes: como um veículo inerte, ou como meio reativo. Em outras palavras, o agente tóxico pode dissolver-se

simplesmente por um processo físico ou, ao contrário, combinar-se quimicamente com elementos do sangue. No primeiro caso tem-se a dissolução do AT no sangue e no segundo caso a reação química.

- **Dissolução do AT no sangue**

Deve-se, neste caso, considerar o agente químico como o soluto e o sangue como solvente. Em relação ao soluto, o fator que influi na absorção pulmonar é a sua concentração no ar alveolar (pressão parcial). Na verdade se estabelece uma troca de moléculas entre o ar alveolar e o sangue, no sentido do local onde a pressão parcial é menor. Assim, se a pressão parcial no ar alveolar for maior que no sangue, ocorrerá absorção e se for maior no sangue do que no ar alveolar, haverá excreção. É evidente, portanto, a importância de fatores ambientais, tais como temperatura e pressão, já que estes fatores vão influir na pressão parcial de gases e vapores.

Em relação ao solvente, deve-se considerar a constituição do sangue. Este tecido orgânico apresenta tanto uma característica aquosa (3/4 do sangue é água) quanto orgânica (proteínas, lípidos, etc.). Sendo assim, mais do que a lipo ou hidrossolubilidade de um agente tóxico, deve-se aqui, considerar a sua solubilidade no sangue. A importância deste fator surge de maneira mais evidente, quando se recorda que a duração do contato entre o ar alveolar e o sangue é de uma fração de segundo apenas. Então, para os gases e vapores que não estabelecem combinações químicas, apenas suas solubilidades no sangue assegurarão uma boa absorção pulmonar. Uma maneira prática de se observar a solubilidade de uma substância no sangue é determinar o chamado coeficiente de distribuição (K). O coeficiente de distribuição (K) é expresso pela relação entre a concentração do agente tóxico no ar alveolar/concentração do AT no sangue, no momento em que se instala o equilíbrio. Alguns autores utilizam a correlação: concentração do AT no sangue/concentração do AT no ar alveolar, para avaliar a solubilidade da substância.

Então um coeficiente baixo, ou seja denominador alto, implica em uma boa solubilidade no sangue e isto conduz a uma concentração elevada do agente neste meio. No entanto, justamente devido a esta alta solubilidade, a saturação sangüínea será lenta, a retenção do agente neste local será mais longa e a transferência aos tecidos tardia. Quando o coeficiente de distribuição é alto, os fenômenos inversos acontecem. Assim o K permite avaliar a concentração do AT no sangue conhecendo-se sua concentração no ar alveolar.

Pode-se observar que dois fatores foram destacados até aqui: a pressão parcial do gás ou vapor e sua solubilidade no sangue. Não foi considerada a presença das membranas alveolares e capilares interpostas entre o ar e o sangue. Isto porque estas membranas tem espessura muito pequena (cerca de 1μ) e superfície muito grande, não representando um obstáculo à absorção das substâncias químicas. Se o agente tóxico tem

pequeno tamanho molecular e boa solubilidade no sangue, poderá ser absorvido pelos pulmões.

É importante considerar também fatores fisiológicos, tais como a frequência cardíaca e respiratória, que podem aumentar ou diminuir a saturação sangüínea e conseqüentemente a absorção. A influência destes fatores difere de acordo com o tipo de substância analisada. Assim, para substância de K baixo, ou seja, muito solúveis em água, o aumento da frequência respiratória favorecerá a absorção. Já para a substância de K elevado (pouco solúvel no sangue), a absorção será favorecida pelo aumento na frequência cardíaca. Importante ressaltar que, no caso do sexo feminino, o estado gestacional pode alterar esses parâmetros fisiológicos e, em conseqüência, a intensidade da absorção pulmonar (Tabela 3).

Tabela 3: Diferenças fisiológicas entre mulheres gestantes e não gestantes, que podem afetar a absorção pulmonar de agentes tóxicos.

Parâmetro	Diferença fisiológica	Diferença na absorção
função pulmonar	> nas gestantes	> exposição pulmonar
rendimento cardíaco	> nas gestantes	> absorção

- **Combinação Química do Agente Químico com o Sangue**

Ao contrário da dissolução, que é puramente física, ocorre aqui uma fixação entre o AT e o sangue que dependerá da afinidade química entre estes dois elementos. No caso da combinação química, não ocorrerá um equilíbrio entre o AT presente no ar alveolar e no sangue. São várias as substâncias químicas que se ligam quimicamente ao sangue são monóxido de carbono (CO), chumbo, mercúrio, etc.

2.2.3.2) Material particulado ou aerodispersóides

Aerodispersóides são partículas sólidas ou líquidas de pequeno tamanho molecular, que ficam em suspensão no ar, por um período longo de tempo. Geralmente, somente as partículas com diâmetro menor ou igual a 1μ atingirão os alvéolos e poderão sofrer absorção. As partículas que possuem diâmetro maior ficarão retidas nas regiões menos profundas do trato respiratório.

A penetração e retenção dos aerodispersóides no trato pulmonar depende de fatores como:

- *Diâmetro da partícula*: o diâmetro das partículas nem sempre indica o seu comportamento no aparelho respiratório. É importante considerar o **diâmetro aerodinâmico** que é função do tamanho (diâmetro físico) e da densidade da partícula. Quanto maior o diâmetro aerodinâmico, menor a penetração ao longo das vias aéreas superiores. Assim, se existem duas partículas com o mesmo diâmetro físico, a de maior densidade terá o maior diâmetro aerodinâmico e penetrará menos ao longo das vias aéreas superiores (VAS).
- *Hidrossolubilidade*: devido à umidade existente nas VAS, as partículas hidrossolúveis tenderão a ficar retidas na parte superior do trato pulmonar, sem alcançar os alvéolos.
- *Condensação*: o tamanho das partículas no aparelho respiratório pode ser alterado pela aglomeração ou por adsorção de água, originando partículas maiores. Influem na condensação a carga da partícula, as propriedades físico-químicas da substância, o tempo de retenção no trato respiratório, etc.
- *Temperatura*: ela pode aumentar o movimento browniano (movimento natural e ao acaso de partículas coloidais pequenas), o que provocará maior colisão das partículas e, conseqüentemente, sua maior condensação e maior retenção.

➤ **Mecanismos de retenção dos aerodispersóides**

As partículas que medem mais do que 30μ não conseguem penetrar no trato pulmonar, uma vez que, devido à força da gravidade, elas se sedimentarão rapidamente no ambiente. Entretanto, quando a “força” de inspiração é aumentada (por exemplo em trabalhos pesados), pode ocorrer a penetração dessas partículas.

As partículas que apresentam diâmetro menor do que 30μ , entretanto, são capazes de penetrar no trato pulmonar, sendo que o mecanismo de retenção e remoção das mesmas varia de acordo com a região do trato pulmonar.

- *Região nasofaríngea*: nesta região, as partículas com diâmetro aerodinâmico entre 30 e 5μ se depositam pelo processo de impactação. Como o diâmetro da partícula e a velocidade do ar inspirado são elevados e as vias dessa região tem uma mudança brusca de direção, as partículas se chocam com as paredes e ficam retidas
- *Região traqueobronquial*: partículas com diâmetro aerodinâmico entre 5 e 1μ se depositam nessa região, por sedimentação. Como o ar não tem muita velocidade e nem há mudanças bruscas de direção nesta região, as partículas ficam mais tempo no local e se sedimentam devido à força de gravidade.

- *Região alveolar*: apenas partículas com diâmetro menor do que 1μ conseguem atingir esta região, onde se depositam por um processo de difusão. Como a velocidade do ar é praticamente nula, e a força da gravidade pouco influi (as partículas são muito pequenas), os aerodispersóides, devido ao movimento browniano, vão se chocando com as partículas dos gases presentes nos alvéolos (O_2 e CO_2) e assim difundem-se até às paredes, onde se depositam.

➤ **Mecanismos de Remoção dos Aerodispersóides do Trato Pulmonar**

Nem todas partículas que se depositam no aparelho pulmonar serão retidas nele. Se assim fosse, calcula-se que, após 20-30 anos de trabalho, os mineiros deveriam ter cerca de 1 kg de partículas retidas em seus pulmões. No entanto, os estudos detectaram apenas cerca de 20g o que demonstra um eficiente sistema de remoção ou de “clearance” pulmonar. Os mecanismos de remoção vão depender do local de deposição. Assim:

⇒ *Região nasofaríngea*: as partículas são removidas pelo muco, associado ao movimento dos cílios, que vibram em direção à faringe. É o chamado movimento mucociliar.

⇒ *Região traqueobronquial*: o processo de remoção é o mesmo anterior (movimento mucociliar), sendo que a tosse, ocasionada pela presença de corpo estranho na região, pode auxiliar nesta remoção. Algumas substâncias tais como o SO_2 , amônia e também a fumaça de cigarro diminuem a velocidade de remoção nesta região.

⇒ *Região alveolar*: os epitélios dos bronquíolos e dos alvéolos são desprovidos de cílios. O muco está presente devido à secreção das células epiteliais. Esse muco se move em direção ao epitélio ciliado, através de um processo de migração, ainda bastante discutido. Sabe-se que este mecanismo é capaz de remover as partículas em direção às vias aéreas superiores e que ele é estimulado pela presença das próprias partículas nos alvéolos. Outro mecanismo de remoção é a fagocitose, realizada pelos macrófagos presentes em grande número na região.

Os fagócitos contendo as partículas podem migrar em duas direções: - até aos brônquios onde são eliminados pelo movimento mucociliar (que é o mais comum); - até ao sistema linfático, através da penetração pelas paredes dos alvéolos. A fagocitose pode remover até 80% das partículas presentes nos alvéolos. A velocidade do *clearance* no trato pulmonar pode variar também de acordo com a região:

⇒ Na região nasofaríngea a velocidade é muito rápida. A remoção ocorre em minutos.

⇒ Na região traqueobronquial a velocidade é rápida e a remoção ocorre em minutos ou horas. Em regiões mais profundas dos brônquios esta velocidade de remoção é moderada (cerca de horas).

⇒ Na região alveolar a velocidade de *clearance* é lenta, podendo levar de dias até anos para ocorrer. Ela vai depender do tipo de partícula e do mecanismo de remoção. As partículas presentes nos alvéolos, que não foram removidas ou absorvidas, podem ficar retidas na região, causando as chamadas Pneumoconioses.

2.3) Distribuição

Após a entrada do AT na corrente sangüínea, seja através da absorção ou por administração direta, ele estará disponível para ser distribuído pelo organismo. Normalmente a distribuição ocorre rapidamente e a velocidade e extensão desta dependerá principalmente do:

⇒ Fluxo sangüíneo através dos tecidos de um dado órgão;

⇒ Facilidade com que o tóxico atravessa a membrana celular e penetra nas células de um tecido.

Assim, aqueles fatores que influem no transporte por membranas, discutidos anteriormente, serão importantes também na distribuição. Alguns agentes tóxicos não atravessam facilmente as membranas celulares e por isto tem uma distribuição restrita enquanto outros, por atravessá-las rapidamente, se distribuem através de todo organismo. Durante a distribuição o agente alcançará o seu sítio alvo, que é o órgão ou tecido onde exercerá sua ação tóxica, mas poderá, também, se ligar a outros constituintes do organismo, concentrando-se em algumas partes do corpo.

Em alguns casos, estes locais de maior concentração são também os sítios de ação e disto resulta efeitos altamente prejudiciais. É o caso do monóxido de carbono (CO), para o qual o sangue representa, tanto o local de concentração quanto o de ação tóxica. Felizmente para o homem, no entanto, a grande maioria dos AT atingem seus maiores níveis em locais diferentes do sítio alvo (exemplo: Pb é armazenado nos ossos e atua nos tecidos moles). Este acúmulo do AT em outros locais que não o de ação, funciona como uma proteção ao organismo, uma vez que previne uma elevada concentração no sítio alvo. Os agentes tóxicos nos locais de concentração estão em equilíbrio com sua forma livre no sangue e quando a concentração sangüínea decai, o tóxico que está concentrado em outro tecido é liberado para a circulação e daí pode atingir o sítio de ação.

A importância do sangue no estudo da distribuição é grande, não só porque é o principal fluído de distribuição dos AT, mas também por ser o único tecido que pode ser colhido repetidamente sem distúrbios fisiológicos, ou traumas orgânicos. Além disto, como o sangue circula por todos os tecidos, algum equilíbrio pode ser esperado entre a concentração do fármaco no sangue e nos tecidos, inclusive no sítio de ação. Assim, a concentração plasmática fornece melhor avaliação da ação tóxica do que a dose (a não ser quando a concentração plasmática é muito baixa em relação à concentração nos tecidos).

A distribuição do AT, através do organismo ocorrerá de maneira não uniforme, devido a uma série de fatores que podem ser reunidos em dois grupos: Afinidade por diferentes tecidos e Presença de membranas

O papel da ligação às proteínas plasmáticas e do armazenamento na distribuição desigual dos xenobióticos são, dentre os supracitados, os mais estudados, atualmente

2.3.1) Afinidade por diferentes tecidos

2.3.1.1) Ligação às proteínas plasmáticas (PP)

Várias proteínas do plasma podem se ligar à constituintes do corpo (ex.: ácidos graxos, triptofano, hormônios, bilirrubinas, etc.) e também aos xenobióticos. A principal proteína, sob o ponto de vista da ligação a xenobióticos, é a albumina. Algumas globulinas tem também papel relevante na ligação aos agentes estranhos, especialmente àqueles de caráter básico. Destaca-se aqui a α_1 glicoproteína ácida.

Com exceção das substâncias lipossolúveis de caráter neutro, que geralmente se solubilizam na parte lipídica das lipoproteínas, a ligação de fármacos às proteínas plasmáticas é feita, usualmente, pela interação de grupos polares ou não polares dos AT com o(s) grupo(s) protéico(s). Ex.: os fármacos de caráter ácido, se ligam em um único sítio de albumina, possivelmente ao nitrogênio do aminoácido terminal, que é no homem, o ácido aspártico.

O elevado peso molecular das proteínas plasmáticas impede que o complexo AT-PP atravesse pelas membranas dos capilares restringindo-o ao espaço intravascular. Assim, enquanto ligado às proteínas plasmáticas, o AT não estará disponível para a distribuição no espaço extravascular. Deve-se observar, no entanto, que esta ligação é reversível (geralmente feita por pontes de hidrogênio, forças de van der Waals, ligação iônica), e a medida que o agente livre se difunde através da membrana capilar, a fração ligada se dissocia das proteínas tornando-se apta para ser distribuída. Esta ligação atua, portanto, graduando a distribuição dos xenobióticos e, conseqüentemente, a chegada ao sítio de ação.

Efeitos tóxicos severos pode aparecer, quando há um deslocamento anormal dos xenobióticos de seus sítios de ligação protéica. Alguns dos fatores que influem nesta ligação são:

- **Competição entre fármacos:** as proteínas plasmáticas não possuem sítios específicos de ligação e duas ou mais substâncias que se ligam ao mesmo sítio protéico, irão competir entre si por esta ligação. Esta competição pode ocorrer entre dois ou mais xenobióticos ou entre xenobióticos e substratos endógenos. Como conseqüência ocorrerá um aumento na concentração livre de um dos fármacos e, portanto, o risco de

intoxicação. Ex.: sulfonamidas e bilirrubina competem pelo mesmo sítio da albumina; o warfarin (anticoagulante) é geralmente deslocado pelo AAS.

- Condições patológicas: algumas doenças alteram a conformação do sítio de ligação na proteína, outras alteram o pH do plasma e podem provocar a ionização do complexo agente-proteína e outras, ainda, modificam a quantidade de proteínas plasmáticas. Ex.: a síndrome nefrótica, que permite a eliminação da albumina através da urina, causando hipoalbuminemia.
- Concentração do agente: quanto maior a concentração do fármaco no plasma, maior a ligação protéica. Ex.: fenitoína. Se a concentração deste anticonvulsivante for muito elevada no plasma a ligação protéica aumenta mais do que o esperado e a fração livre disponível para a distribuição e ação é pequena. Neste caso o efeito terapêutico pode nem ser alcançado.
- Concentração protéica: o aumento das proteínas plasmáticas resulta em maior ligação plasmática dos xenobióticos. Ex.: aumento de lipoproteína implica em maior ligação da imipramina.
- pH: para alguns fármacos o pH do plasma altera a ligação às proteínas. Ex.: a teofilina terá uma maior ligação às proteínas plasmáticas quando o pH do sangue está aumentado.
- Idade: a concentração de algumas proteínas plasmáticas é alterada com a idade. Ex.: as crianças tem uma quantidade de albumina menor do que o adulto. Consequentemente, os fármacos que se ligam essencialmente à albumina estarão mais livres e podem ser mais rapidamente distribuídos, causando efeitos tóxicos mais severos, mesmo com doses não muito grandes.
- Espécie e variedade

2.3.1.2) Ligação Celular

Embora não tão estudado como a ligação às proteínas plasmáticas, a ligação a outros tecidos exerce um papel muito importante na distribuição desigual dos agentes pelo organismo. Sabe-se a quantidade total de albumina plasmática no homem de 70kg é cerca de 120g e a albumina intersticial total é em torno de 156g, logo a quantidade de albumina total no corpo é aproximadamente 276g, ou seja, cerca de 0,4% do peso corpóreo. A água corpórea total corresponde a 60% do peso corpóreo, logo pode-se deduzir que os restantes 40% do peso corpóreo é de tecido não hidratado.

Assim, a ligação de AT a componentes teciduais poderá alterar significativamente a distribuição dos xenobióticos, já que a fração de AT ligada aos tecidos será inclusive maior do que a ligada às proteínas plasmáticas. Sob o aspecto de ligação a xenobióticos, o tecido hepático e o renal tem um papel especial. Eles possuem elevada capacidade de se

ligarem aos agentes químicos e apresentam as maiores concentrações destes (e também de substâncias endógenas), quando comparados com outros órgãos.

Os mecanismos através dos quais estes órgãos removem os agentes do sangue não estão bem estabelecidos, no entanto, sabe-se que as proteínas intra-celulares são componentes fundamentais na ligação dos fármacos ao tecido hepático e renal. Por ex.: a proteína Y ou “ligandina”, presente no citoplasma das células hepáticas tem alta afinidade pela maioria dos ácidos orgânicos e parece ter importante papel na transferência de ânions orgânicos do plasma para o fígado.

A metalotineína, outra proteína tecidual, tem sido encontrada no fígado e rins ligada ao cádmio, cobre e zinco. A rapidez com que o fígado se liga a xenobióticos pode ser exemplificada pelo chumbo que, 30 minutos após a administração tem sua concentração hepática 50 vezes maior do que a plasmática.

2.3.1.3) Armazenamento

Os agentes tóxicos podem ser armazenados no organismo, especialmente em dois tecidos distintos:

➤ Tecido adiposo:

Como a lipossolubilidade é uma característica fundamental para o transporte por membranas, é lógico imaginar que os agentes tóxicos de uma maneira geral poderão se concentrar no tecido adiposo. Os xenobióticos são armazenados no local através da simples dissolução física nas gorduras neutras do tecido. Assim, um agente tóxico, com elevado coeficiente de partição óleo/água, pode ser armazenado no tecido adiposo em grande extensão e isto diminuirá a concentração do AT disponível para atingir o sítio alvo. O tecido adiposo constitui 50% do peso de um indivíduo obeso e 20% de um magro. Sendo o armazenamento um mecanismo de defesa é lógico imaginar que a toxicidade de um AT não será tão grande para a pessoa obesa como para uma pessoa magra. Mais real, no entanto, é pensar na possibilidade de um aumento súbito da concentração do AT no sangue e sítio de ação, devido a uma rápida mobilização das gorduras.

➤ Tecido Ósseo:

Um tecido relativamente inerte como o osso pode também servir como local de armazenamento de agentes químicos inorgânicos, tais como flúor, chumbo e estrôncio.

O fenômeno de captura dos xenobióticos pelos ossos pode ser considerado essencialmente um fenômeno químico, no qual as mudanças

ocorrem entre a superfície óssea e o líquido que está em contato com ela. O líquido é o fluído extracelular e a superfície envolvida é a matriz inorgânica do osso. Recordando: a superfície óssea possui uma matriz orgânica e outra inorgânica, esta sendo formada pelos cristais de hidroxiapatita [$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}(\text{OH})_2$]. Após ser trazido até o cristal ósseo através do fluído extracelular, o AT poderá penetrar na superfície do cristal, de acordo com o seu tamanho e sua carga molecular. Assim, por exemplo, o fluoreto (F^-) pode ser facilmente colocado no lugar da hidroxila (OH^-) e o Pb e Sr no lugar do Ca. O armazenamento de xenobióticos no tecido ósseo poderá, ou não, provocar efeitos tóxicos no local. O Pb não é nocivo para os ossos, mas o F pode provocar fluorose óssea e o Sr radioativo, osteosarcoma e outras neoplasias.

Este armazenamento não é irreversível. O agente tóxico pode ser liberado dos ossos através de:

- ⇒ Dissolução da hidroxiapatita através da atividade osteoclástica (destruição do tecido ósseo provocado pela ação dos osteoclastos, células do próprio tecido ósseo que tem tal função);
- ⇒ Aumento da atividade osteolítica (destruição do tecido ósseo provocada por substâncias químicas, enzimas, etc). Este tipo de ação pode ser observado através da ação do paratormônio, hormônio da paratireóide, que tem ação descalcificante óssea. Se no lugar do cálcio o osso contiver um AT, este será deslocado para a corrente sanguínea, aumentando a sua concentração plasmática.
- ⇒ Troca iônica

2.3.2) Presença de membranas

2.3.2.1) Barreira Hematencefálica

A chamada barreira hematencefálica, que protege o cérebro da entrada de substâncias químicas, é um local menos permeável do que a maioria de outras áreas do corpo.

Existem três razões anatômicas e fisiológicas principais que dificultam a entrada de agentes tóxicos no cérebro, formando a chamada barreira hematencefálica:

- ⇒ as células endoteliais dos capilares são muito finas com nenhum ou poucos poros entre elas;
- ⇒ os capilares do sistema nervoso central (SNC) são largamente circundados pelos astrócitos (tecido conectivo glial);
- ⇒ a concentração protéica no fluído intersticial do SNC é muito menor do que em qualquer outra parte do corpo.

Assim, em contraste com outros tecidos, o AT tem dificuldade em se mover entre os capilares, tendo de atravessar não somente o endotélio capilar, mas também a membrana das células gliais, para alcançar o fluído

intersticial. Uma vez que este fluído é pobre em proteínas, o AT não pode usar a ligação protéica para aumentar a distribuição dentro do SNC. Estes fatos juntos atuam como um mecanismo de proteção, que diminui a distribuição e ação dos tóxicos no SNC, já que eles não entram no cérebro em quantidades significativas. A eficiência da barreira hematoencefálica varia de uma área do cérebro para outra. Ex.: a córtex, o nucleopineal e o lóbulo posterior da hipófise são mais permeáveis do que outras áreas cerebrais. Não está claro se a maior permeabilidade destas áreas decorre de um suprimento sanguíneo mais rico ou de uma permeabilidade mais adequada da barreira ou dos dois fatores juntos.

Os princípios que regem o transporte das substâncias através de membranas são também os que comandam a entrada de tóxicos no cérebro. Assim, somente a forma livre estará apta para entrar no cérebro, desde que seja lipossolúvel. A lipossolubilidade é um fator preponderante na velocidade e quantidade de AT que entra no SNC, ou seja, a velocidade de entrada no SNC é proporcional ao coeficiente de partição o/a da substância.

A barreira hematencefálica não está totalmente desenvolvida por ocasião do nascimento e esta seria uma explicação para a maior toxicidade dos AT nos recém-nascidos.

2.3.2.2) “Barreira” Placentária

Durante anos, o termo “barreira” placentária demonstrou o conceito que a principal função da placenta era proteger o feto contra a passagem de substâncias nocivas provenientes do organismo materno. Sabe-se hoje que ela possui funções mais importantes, tais como a troca de nutrientes (O₂, CO₂, etc.). Este material vital necessário para o desenvolvimento do feto é transportado por processo ativo, com gasto de energia. Já a maioria dos xenobióticos que se difundem através da placenta o fazem por difusão passiva. Atualmente sabe-se que a placenta não representa uma barreira protetora efetiva contra a entrada de substâncias estranhas na circulação fetal.

Anatomicamente a placenta é o resultado de várias camadas celulares interpostas entre a circulação fetal e materna. O número de camadas varia com a espécie e com o período de gestação e isto provavelmente afeta a sua permeabilidade. Na espécie humana ela possui ao todo seis camadas, três de origem materna e três de origem fetal.

Poderia se pensar que as espécies que apresentam placenta com maior número de camadas são mais protegidas contra agentes tóxicos durante a gestação. Entretanto, a relação entre o número de camadas e a permeabilidade placentária não está suficientemente estudada. Embora não totalmente efetiva na proteção do feto contra a entrada de AT, existem alguns mecanismos de biotransformação de fármacos, que podem prevenir a passagem placentária de alguns xenobióticos.

2.4) ELIMINAÇÃO

Aceita-se, atualmente, que a eliminação é composta de dois processos distintos: a biotransformação e a excreção.

2.4.1) Biotransformação

O organismo vivo apresenta mecanismos de defesa, que buscam terminar ou minimizar a ação farmacológica ou tóxica de um fármaco sobre ele, destacando-se o armazenamento, a biotransformação e a excreção.

A intensidade e duração de uma ação tóxica é determinada, principalmente, pela velocidade de biotransformação do agente no organismo. Segundo alguns autores, se não existisse a biotransformação, o organismo humano levaria cerca de 100 anos para eliminar uma simples dose terapêutica de pentobarbital, que é um fármaco muito lipossolúvel.

Pode-se conceituar Biotransformação como sendo o conjunto de alterações maiores ou menores que um agente químico sofre no organismo, visando aumentar sua polaridade e facilitar sua excreção.

2.4.1.1) Mecanismos da Biotransformação

A biotransformação pode ocorrer através de dois mecanismos:

- chamado **Mecanismo de Ativação** da Biotransformação, que produz metabólitos com atividade igual ou maior do que o precursor. Ex.: a piridina é biotransformada ao íon N-metil piridínico que tem toxicidade cinco vezes maior que o precursor. O mesmo ocorre com o inseticida parathion que é biotransformado a paraoxon, composto responsável pela ação tóxica do praguicida e
- **Mecanismo de Desativação**, quando o produto resultante é menos ativo (tóxico) que o precursor. É o mais comum de ocorrer para os xenobióticos.

É comum encontrar-se na literatura científica, os termos Metabolização e Detoxificação, como sinônimos de biotransformação. Hoje, no entanto, se guarda o termo metabolização para os elementos essenciais endógenos do organismo e sabe-se que detoxificação não é sinônimo de Biotransformação. Isto porque detoxificação significa diminuição de toxicidade e nem todas as reações de biotransformação, como citado acima, produzirão metabólitos menos tóxicos ou ativos que o seu precursor.

É importante ressaltar que, na maioria das vezes:

- ⇒ Nenhum fármaco deixará de ser, no mínimo, parcialmente biotransformado;
- ⇒ Nenhum fármaco sofrerá apenas um tipo de biotransformação;
- ⇒ Duas espécies animais não biotransformarão um fármaco de maneira idêntica;

⇒ Nenhuma biotransformação permanecerá inalterada com doses repetidas do fármaco.

A biotransformação pode ocorrer em qualquer órgão ou tecido orgânico como por exemplo no intestino, rins, pulmões, pele, etc. No entanto, a grande maioria das substâncias, sejam elas endógenas ou exógenas serão biotransformadas no FÍGADO.

O fígado é o maior órgão humano, tendo diversas e vitais funções, destacando-se entre elas, as transformações de xenobióticos e nutrientes. A biotransformação é executada geralmente por enzimas, principalmente aquelas existentes nos chamados microssomas hepáticos, que são vesículas presentes no sistema retículo endotelial liso (REL). Algumas reações de biotransformação não são microssômicas, embora sejam enzimáticas e um número ainda menor pode ocorrer sem o envolvimento de enzimas.

2.4.1.2) Fases da Biotransformação

As reações envolvidas na biotransformação dos xenobióticos podem ser agrupadas em duas fases distintas:

- Fase Pré-Sintética ou Fase I, onde ocorrem reações de oxidação, redução e hidrólise.
- Fase Sintética, de Conjugação ou Fase II, onde ocorrem reações de conjugação.

Fase Pré-Sintética

➤ Oxidação:

A essência bioquímica de vida animal é a oxidação e qualquer xenobiótico que possa ser modificado por via idêntica ou análoga será facilmente biotransformado no organismo, embora nem sempre o produto resultante seja menos tóxico. As oxidações são, geralmente, catalisadas por uma classe de enzima denominada oxidase de função mista, que são enzimas complexas, inespecíficas (oxidam diferentes tipos de compostos) e que necessitam de NADPH e O_2 para agirem. Durante a oxidação elas exigem uma molécula de oxigênio para cada molécula de fármaco a ser oxidado (um átomo de oxigênio é incorporado ao fármaco ocorrendo a oxidação e outro é, geralmente, combinado com H_2 , formando água).

A enzima ou sistema enzimático principal na oxidação de xenobióticos é o chamado Citocromo P_{450} . Esta enzima é um citocromo (complexo de proteína e heme) chamado de P_{450} porque em sua forma reduzida é ligado ao monóxido de carbono, terá um pico (P) de absorvância no comprimento de onda de 450nm. O cit P_{450} parece estar localizado nas camadas profundas na membrana do retículo endotelial liso (REL), mais especificamente, nos microssomas hepáticos. Esta enzima é a oxidase terminal do sistema de oxidases mistas. Ela recebe os elétrons provenientes de outras fases da reação, se reduz e se liga ao O_2 e ao fármaco,

promovendo de fato a oxidação do composto. Isto é demonstrado na Figura 6 apresentada a seguir:

Outras enzimas estão presentes nos microsomas hepáticos e, embora menos conhecidas e importantes que o Cit P₄₅₀ podem, também, biotransformar xenobióticos. É o caso por exemplo do citocromo b₅, que está localizado fora das membranas do REL.

O sistema enzimático Cit P₄₅₀ é influenciado por uma série de substâncias, que podem induzir ou inibir a sua atividade, alterando a biotransformação de determinados compostos. Ex.: a) fenilbutazona (antiinflamatório e antireumático) e o cloranfenicol podem inibir a biotransformação enzimática da tolbutamida, medicamento antidiabético. Com isto, uma dose terapêutica deste medicamento poderá causar crises de hipoglicemia sérias, devido à diminuição excessiva do açúcar no sangue; b) Fenobarbital e álcool são exemplos de indutores enzimáticos, que aumentam a biotransformação de outros fármacos como a metadona, fenilbutazona, etc. Parece que nestes casos tanto o fenobarbital como o álcool, aumentam a concentração do Cit P₄₅₀ e, conseqüentemente, aumenta a biotransformação dos fármacos. Outros fatores que influem na biotransformação serão discutidos posteriormente.

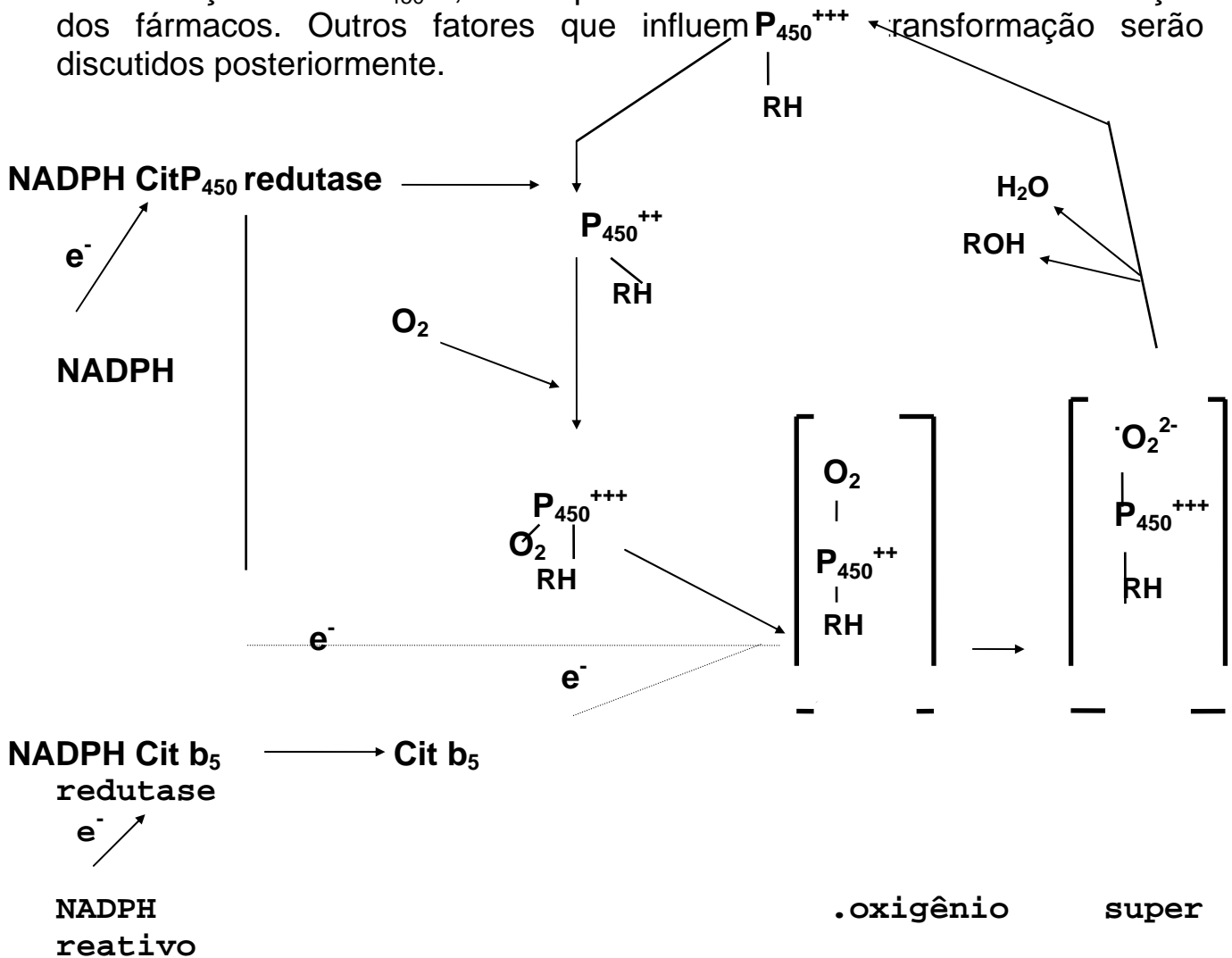


Figura 6: Oxidação dos xenobióticos através do sistema microsômico Citocromo P₄₅₀

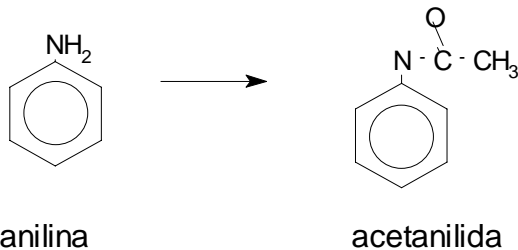
➤ Redução:

A redução de xenobióticos é muito menos comum do que a oxidação uma vez que a mesma é contrária à tendência geral das reações bioquímicas dos tecidos vivos, ou seja a oxidação. Deve-se considerar que toda a reação enzimática é, fundamentalmente, reversível sendo sua direção dependente do equilíbrio químico. Assim, se a forma reduzida no equilíbrio é mais excretável que a forma oxidada, a lei de ação das massa tende a deslocar a reação no sentido da redução. A redução pode ser executada enzimaticamente, envolvendo enzimas microssômicas ou não. Já foi demonstrado a existência do Cit P₄₅₀ redutase, enzima NADPH dependente, localizada fora da membrana do REL, que é responsável pela redução de uma série de produtos.

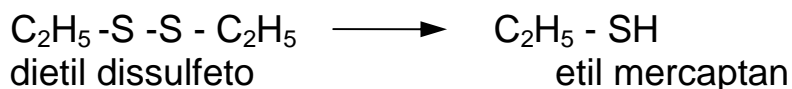
Exemplos:

⇒ Redução não-microssômica

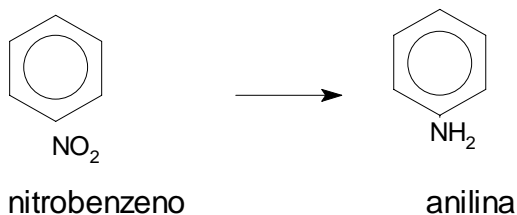
- desaminação



- Redução dissulfídrica



⇒ Redução microssômica



➤ Hidrólise

Certos xenobióticos são lisados antes de sofrerem outras reações de biotransformação. A mais comum destas reações é a hidrólise de ésteres, embora amidas, nitrilas e hidrazidas, também possam ser hidrolizadas.

A hidrólise de ésteres (R-COOR) é feita pelas enzimas denominadas esterases, que podem ser de origem microssômica ou não. Geralmente estas esterases não tem uma boa especificidade, ou seja, uma esterase pode, além de hidrolisar ésteres, provocar a quebra de acetanilidas, amidas e outros derivados da anilina.

Fase Sintética ou de Conjugação

Um fator importante na toxicidade de um xenobiótico é a sua capacidade de ser excretado, e parece que os rins dos vertebrados é constituído de maneira a excretar eletrólitos mais facilmente que não eletrólitos. Assim, quanto mais ionizado estiver um ácido orgânico no pH do meio, mais rapidamente ele será excretado pelos rins. A ionização, por sua vez, depende do chamado **momento dipolo** (ou grau de polaridade), ou seja, da distância entre o centro geométrico de todas as cargas positivas e de todas as cargas negativas. É claro que moléculas com momento dipolo baixo (carga positiva perto da carga negativa) terão uma simetria maior e, portanto, uma ionização mais difícil. Já moléculas com grandes dipolos (ou seja, moléculas onde as cargas positivas e negativas estão distantes) terão uma menor simetria e, conseqüentemente, maior ionização.

Nas reações de conjugação o xenobiótico, provenientes ou não da fase pré-sintética, se liga a substratos endógenos do organismo formando metabólitos com tamanho molecular elevado e, conseqüentemente, mais excretáveis e menos tóxicos. Ou seja, na conjugação observa-se: aumento do tamanho → maior polaridade → maior ionização → maior excreção → menor toxicidade.

Os principais compostos endógenos envolvidos na conjugação são:

- ⇒ Aminoácidos e seus derivados, tais como a glicina, cisteína, etc.
- ⇒ Carboidratos e seus derivados, especialmente o ácido glicurônico e glicose.
- ⇒ Conjugação com compostos simples, como por exemplo sulfato e acetato.

O composto endógeno envolvido na conjugação está, geralmente, na sua forma “ativa”, ou seja, ligado a uma coenzima da qual é transferido para o xenobiótico.

As coenzimas envolvidas são:

- ⇒ Coenzima A (onde está ligado o acetato ou outros ácidos graxos de cadeia curta).
- ⇒ Adenosina ou fosfoadenosina fosfato (PAP) onde está ligado o sulfato, metionina e etionina.

⇒ Uridina difosfato (UDP) onde se liga o ácido glicurônico e a glicose.

As conjugações mais freqüentes são aquelas feitas com ácido glicurônico e com o sulfato.

Conjugações com ácido glicurônico:

O ácido glicurônico é um derivado 6-carboxil da glicose, formado durante o metabolismo deste açúcar. A forma ativa deste composto, o ácido uridino difosfato glicurônico (UDPGA) é formado enzimaticamente na fração solúvel do fígado. Esta forma ativa doa o ácido glicurônico para se conjugar com o xenobiótico e esta reação é catalisada pela transglicuronilase ou glicuroniltransferase, presente na fração microssômica hepática.

O ácido glicurônico que está em configuração α no UDPGA, sofre inversão de Walden e se conjuga com o xenobiótico em configuração β .

Os conjugados glicurônicos ou glicuronídeos são muito polares e, portanto, facilmente excretados do organismo. Em relação às substâncias endógenas, são poucas aquelas capazes de sofrerem conjugação glicurônica. Exemplo: tiroxina e bilirrubina. É como se o organismo tivesse “guardado” este tipo de conjugação para a biotransformação de xenobióticos.

Conjugação com Sulfato:

Este tipo de conjugação é quase tão comum quanto a anterior. Os produtos da conjugação com sulfatos são sais de sulfatos ácidos (SO_3) ou de sulfamatos (NHSO_3), que, no pH fisiológico são totalmente ionizados e rapidamente excretados pelos rins. Os íons sulfatos presentes no organismo também terão que ser ativados para se conjugarem com os xenobióticos. Esta ativação envolve o uso de ATP e é feita pelas enzimas ATP-sulfato-adenil-transferase e ATP-adenil-sulfato-3-fosfotransferase. Forma-se, então, o PAPS, que é a forma ativa do sulfato, presente na fração microssômica hepática e que sob ação da sulfoquinase cede o sulfato ao xenobiótico, formando o conjugado.

2.4.1.3) Fatores que influem na Biotransformação

Além da indução e inibição enzimática estudada anteriormente, outros fatores podem alterar a biotransformação dos xenobióticos. São eles:

➤ Dose e Freqüência:

A dose geralmente altera a via de biotransformação. Certas enzimas possuem elevada afinidade, mas baixa capacidade para biotransformar substâncias exógenas. Por isto, serão rapidamente saturadas, quando doses elevadas do tóxico são administradas e outras vias secundárias passam a ter um papel mais importante. Exemplo: o acetaminofem em doses baixas (15 mg/Kg) é 90% biotransformado através da conjugação com sulfato. Em

doses elevadas (300 mg/kg) apenas 43% será excretado como tal, passando a ser significativa, as excreções como glicuronídeo e ácido mercaptúrico (conjugação com glutathione).

Em relação à frequência, ela pode levar a uma sensibilização ou indução de receptores enzimáticos, aumentando a biotransformação.

➤ Dieta e estado nutricional:

O estado nutricional é bastante importante para a biotransformação; podendo alterar a atividade do Cit P₄₅₀ (oxidase ou redutase). As deficiências em vitaminas, especialmente a C, E e do complexo B, reduzem a velocidade de biotransformação. Elas estão direta ou indiretamente envolvidas na regulação do Cit P₄₅₀. Além disto, suas deficiências podem alterar a energia e o estado redox das células, diminuindo a produção de cofatores, necessários para a fase de conjugação. Uma dieta rica em lípides diminui, geralmente, a biotransformação, uma vez que estes podem aumentar a suscetibilidade à peroxidação lipídica. Esta maior suscetibilidade pode se estender aos lípides das membranas biológicas, e com isto destruir os sistemas enzimáticos intracelulares levando a um aumento da toxicidade dos fármacos. Este papel é desenvolvido, também, pelas dietas pobres em proteínas, visto que a menor concentração proteica diminuirá a síntese enzimática e, conseqüentemente, a biotransformação.

Algumas substâncias naturalmente presentes nos alimentos podem aumentar a biotransformação dos xenobióticos. É o caso dos compostos indólicos e dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; estes últimos presentes em carnes assadas, que induzem à Fase I da biotransformação.

➤ Sexo, Idade, Peso:

Já foi demonstrado que, para algumas substâncias, existem diferenças entre as respostas tóxicas de animais macho e fêmea. Estudos feitos em ratos demonstraram que as fêmeas são mais suscetíveis a uma dose de hexobarbital do que os machos (elas dormem por um tempo maior). Este fato é explicado pela menor capacidade do fígado das fêmeas em biotransformar xenobióticos tornando-as mais suscetíveis à ação da maioria dos agentes tóxicos. A menor atividade hepática destes animais fêmeas no entanto, irá diminuir a ação de fármacos que são biotransformados pelo mecanismo de ativação (ex.: o tetracloreto de carbono e halotano). Acredita-se que estas diferenças entre sexo sejam causadas pelos hormônios sexuais, posto que, ao se administrar testosterona às fêmeas, houve aumento na capacidade de biotransformação e com a castração de machos ocorreu diminuição desta capacidade. A influência do sexo sobre a biotransformação ocorre também em processos que ocorrem em outros órgãos como por exemplo nos rins. Ex.: animais machos são mais suscetíveis à ação tóxica do clorofórmio, provavelmente, por biotransformar mais rapidamente este solvente, originando o foscênio, metabólito intermediário ativo. Embora as diferenças entre sexo sejam mais pronunciadas em ratos, outras espécies entre elas o homem, também apresentam estas modificações (ex.: nicotina, ácido acetilsalicílico, heparina, etc.).

Idade, tanto os animais jovens, quanto os velhos, apresentam menor capacidade de biotransformar xenobióticos e, conseqüentemente, são mais suscetíveis aos seus efeitos tóxicos. Geralmente, o Cit P₄₅₀ dos recém-nascidos tem apenas 20% a 50% da atividade observada em adultos. Em relação aos idosos, não só a atividade diminuída do Cit P₄₅₀, mas também outros fatores, tais como menor fluxo sangüíneo, menor eficiência no sistema da excreção renal e biliar, contribuem para a menor biotransformação dos xenobióticos.

2.4.1.4) Importância da Biotransformação para as Análises Toxicológicas

Esta reside no fato de que a forma mais comum de se encontrar o agente tóxico em material biológico é como produto biotransformado. Assim, conhecendo a biotransformação do AT, sabe-se o que procurar na amostra enviada ao laboratório. Além disto, conhecendo-se a biotransformação e os metabólitos formados, fica mais fácil saber que tipo de amostra é a mais indicada para ser requisitada. Exemplo: a metanfetamina, um anorexígeno do grupo anfetamínicos usado como “bolinha” é biotransformada no organismo, produzindo anfetamina, que é excretada pelos rins. Assim, quando da ingestão ou intoxicação com a metanfetamina, o produto principal a ser pesquisado na urina deverá ser a anfetamina. Os solventes clorados do tipo CHCl₃ e CCl₄ são muito pouco biotransformados no organismo e quando isto ocorre o produto formado é geralmente o CO₂, que será, assim como os precursores, eliminados pelo ar expirado. Logo não adianta solicitar ou receber amostras de urina para serem analisadas.

Já um outro solvente clorado, o tricloretileno, é muito biotransformado no organismo produzindo principalmente ácido tricloacético (TCA) e tricloetanol (TCE), eliminados na urina. Para este xenobiótico a urina é amostra biológica adequada.

2.4.2) Excreção

Este processo é, muitas vezes, denominado Eliminação, embora pelo conceito atual a eliminação é também o processo de biotransformação. A excreção pode ser vista como um processo inverso ao da absorção, uma vez que os fatores que influem na entrada do xenobiótico no organismo, podem dificultar a sua saída. Basicamente existem três classes de excreção:

- eliminação através das secreções, tais como a biliar, sudorípara, lacrimal, gástrica, salivar, láctea.
- eliminação através das excreções, tais como urina, fezes e catarro.
- eliminação pelo ar expirado.

O processo mais importante para a Toxicologia é a excreção urinária.

2.4.2) Excreção Urinária

Sabe-se que a capacidade de um órgão em realizar uma determinada função está intimamente relacionada com sua anatomia e que os rins possuem um elevado desenvolvimento anatômico, voltado para a excreção de substâncias químicas.

Os glomérulos renais filtram cerca de 20% do fluxo cardíaco (os rins recebem 25% deste fluxo) e apresentam poros bastantes largos (cerca de 40 Å enquanto o de outros tecidos medem cerca de 4 Å). Assim, os glomérulos filtram substâncias lipossolúveis ou hidrossolúveis, ácidas ou básicas, desde que tenham PM menor do que 60.000. A filtração glomerular é um dos principais processos de eliminação renal e está intimamente ligado a um outro processo que é a reabsorção tubular. As substâncias, após serem filtradas pelos glomérulos, podem permanecer no lúmen do túbulo e ser eliminada, ou então podem sofrer reabsorção passiva através da membrana tubular. Isto vai depender de alguns fatores, tais como o coeficiente de partição óleo/água; o pKa da substância e pH do meio. De modo geral, as substâncias de caráter alcalino são eliminadas na urina ácida e as substâncias ácidas na urina alcalina. Isto porque nestas condições as substâncias se ionizam, tornando-se hidrossolúveis e a urina é, em sua maior parte, formada de água.

Outro processo de excreção renal é a difusão tubular passiva. Substâncias lipossolúveis, ácidas ou básicas, que estejam presentes nos capilares que circundam os túbulos renais, podem atravessar a membrana por difusão passiva e cair no lúmen tubular. Dependendo do seu pKa e do pH do meio, elas podem, ou não, se ionizarem e, conseqüentemente, serem excretadas ou reabsorvidas.

O terceiro processo de excreção renal é a secreção tubular ativa. Existem dois processos de secreção tubular renal, um para substâncias ácidas e outro para as básicas estando estes sistemas localizados, provavelmente, no túbulo proximal. A secreção tubular tem as características do transporte ativo, ou seja, exige um carregador químico, gasta energia, é um mecanismo competitivo e pode ocorrer contra um gradiente de concentração. Algumas substâncias endógenas, tais como o ácido úrico, são excretadas por este mecanismo e a presença de xenobióticos excretados ativamente, pode interferir com a eliminação de substratos endógenos. A Penicilina é um exemplo de xenobiótico secretado ativamente pelos túbulos. O uso de Probenecid (fármaco excretado pelo mesmo sistema) evita que este antibiótico seja secretado muito rapidamente do organismo. Geralmente, o que ocorre no organismo é uma combinação dos três processos de excreção renal, para permitir uma maior eficácia na eliminação dos xenobióticos.

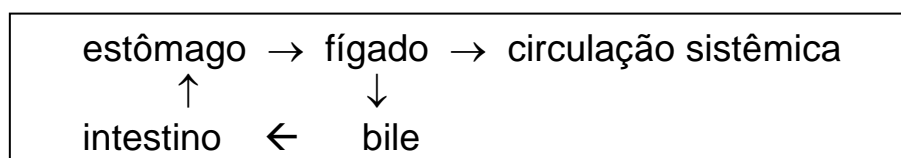
2.4.2.2) Excreção Fecal e Catarral

Não são processos muito importantes para a Toxicologia. Os AT encontrados nas fezes correspondem à fração ingerida e não absorvida ou então ao AT que sofreu secreção salivar, biliar ou gástrica. As partículas que penetram pelo trato pulmonar podem ser eliminadas pela expectoração no TGI e, se não forem reabsorvidas, serão, também, excretadas pelas fezes.

2.4.2.3) Secreção Biliar

Dentre as secreções orgânicas, a mais significativa para a excreção de xenobióticos é a biliar. O fígado tem uma posição vantajosa na remoção de substâncias exógenas do sangue, principalmente daquelas absorvidas pelo trato gastrintestinal. Isto porque, o sangue proveniente do TGI, através da circulação porta, passa inicialmente pelo fígado, e somente depois entra na circulação sistêmica. No fígado parte do xenobiótico pode ser biotransformado e os metabólitos ou mesmo o produto inalterado podem ser secretados pela bile no intestino.

Existem, sabidamente, três sistemas de transporte ativo para a secreção de substâncias orgânicas na bile, a saber, para substâncias ácidas, básicas e neutras. É quase certa a existência de um outro sistema para os metais. Uma vez secretado no intestino, os xenobióticos podem sofrer reabsorção ou excreção pelas fezes. Não se conhece o mecanismo que determina se a excreção será urinária ou biliar. Esquemáticamente temos:



É o chamado ciclo entero hepático e a morfina é um exemplo típico de xenobiótico que apresenta tal ciclo. Ela é conjugada com ácido glicurônico no fígado e o glicuronídeo de morfina é secretado pela bile no intestino. Neste local, pela ação da enzima β -glicuronidase, a morfina é liberada e reabsorvida. O glicoronídeo que não for lisado será excretado pelas fezes.

2.4.2.4) Outras secreções

A eliminação através da secreção sudorípara já é conhecida há alguns anos. Desde 1911 sabe-se que substâncias tais como iodo, bromo, ácido benzóico, ácido salicílico, chumbo, arsênio, álcool, etc., são excretadas pelo suor. O processo parece ser o de difusão passiva e pode ocorrer dermatites em indivíduos suscetíveis, especialmente quando se promove a sudorese para aumentar a excreção pela pele.

A secreção salivar é significativa para alguns xenobióticos. Os lipossolúveis podem atingir a saliva por difusão passiva e os não

lipossolúveis podem ser eliminados na saliva, em velocidade proporcional ao seu peso molecular, através de filtração. Geralmente as substâncias secretadas com a saliva sofrem reabsorção no TGI.

Existe um interesse em relação à secreção de xenobióticos no leite, pois este acaba sendo ingerido por recém-nascidos. Geralmente as substâncias apolares sofrem difusão passiva do sangue para o leite e como esta secreção é mais ácida do que o sangue (ela tem $\text{pH} = 6,5$), os compostos básicos tendem a se concentrarem mais aí. Já os compostos ácidos tem uma concentração láctea menor que a sangüínea. Várias substâncias são, sabidamente, eliminadas pelo leite: DDT, PCB (difênil policlorados), Pb, Hg, As, morfina, álcool, etc.

2.4.2.5) Excreção pelo ar expirado

Gases e vapores inalados ou produzidos no organismo são parcialmente eliminados pelo ar expirado. O processo envolvido é a difusão pelas membranas que, para substâncias que não se ligam quimicamente ao sangue, dependerá da solubilidade no sangue e da pressão de vapor. Estes xenobióticos são eliminados em velocidade inversamente proporcional à retenção no sangue, assim, gases e vapores com K elevado (pouco solúveis no sangue) são rapidamente eliminados, enquanto os de K baixo (muito solúvel no sangue) são lentamente excretados pelo ar expirado. A frequência cardíaca e respiratória influem na excreção destes agentes: a primeira nos de K alto e a segunda nos de K baixo. Em relação à pressão de vapor, os líquidos mais voláteis serão, quase exclusivamente, excretados pelo ar expirado.

Fatores que influem na velocidade e via de excreção

- Via de Introdução: a via de introdução influi na velocidade de absorção, de biotransformação e, também, na excreção.
- Afinidade por elementos do sangue e outros tecidos: geralmente o agente tóxico na sua forma livre está disponível à eliminação.
- Facilidade de ser biotransformada: com o aumento da polaridade a secreção urinária está facilitada.
- Frequência respiratória: em se tratando de excreção pulmonar, uma vez que, aumentando-se a frequência respiratória, as trocas gasosas ocorrerão mais rapidamente.

- Função renal: sendo a via renal a principal via de excreção dos xenobióticos, quaisquer disfunção destes órgãos interferirá na velocidade e proporção de excreção.

3) FASE TOXICODINÂMICA

Esta é a terceira fase da intoxicação e envolve a ação do agente tóxico sobre o organismo. O AT interage com os receptores biológicos no sítio de ação e desta interação resulta o efeito tóxico. O órgão onde se efetua a interação agente tóxico-receptor (sítio de ação) não é, necessariamente, o órgão onde se manifestará o efeito. Além disto, de um AT apresentar elevadas concentrações em um órgão, não significa obrigatoriamente, que ocorrerá aí uma ação tóxica. Geralmente os AT se concentram no fígado e rins (locais de eliminação) e no tecido adiposo (local de armazenamento), sem que haja uma ação ou efeito tóxico detectável.

Quando se considera a complexidade dos sistemas biológicos (do ponto de vista químico e biológico), pode-se imaginar o elevado número de mecanismos de ação existentes para os agentes tóxicos. Alguns destes mecanismos, os principais em Toxicologia, são resumidos a seguir:

3.1) Interferência com o funcionamento de sistemas biológicos

3.1.1) Inibição irreversível de enzimas

O exemplo clássico deste mecanismo são os inseticidas organofosforados, que inibem irreversivelmente a acetilcolinesterase (AChE). Estes inseticidas impedem, assim, que a acetilcolina (Ach), um dos mais importantes neurotransmissores do organismo, seja degradada em colina e ácido acético, após transmitir o impulso nervoso através da sinapse. Ocorrerá acúmulo de Ach e, conseqüentemente, os efeitos tóxicos decorrentes deste acúmulo.

3.1.2) Inibição reversível de enzimas

Geralmente, os AT que atuam através deste mecanismo são anti-metabólitos, ou seja, quimicamente semelhantes ao substrato normal de uma enzima. Assim, o agente tóxico é captado pela enzima, mas não consegue ser transformado por ela, interrompendo assim reações metabólicas essenciais para o organismo. É uma inibição reversível porque o próprio organismo ao final da exposição é capaz de revertê-la, em velocidade não muito lenta. O exemplo clássico é a dos inseticidas carbamatos, que inibem também a AChE só que reversivelmente. Outro exemplo são os antagonistas do ácido fólico (usados no tratamento de tumores malignos e como herbicidas). Estas substâncias inibem enzimas envolvidas na síntese das bases purínicas e pirimidínicas, impedindo, conseqüentemente, que haja síntese de DNA e proliferação celular. Como estes fármacos não tem ação seletiva, podem causar efeitos tóxicos em uma série de tecidos e órgãos.

3.1.3) Síntese letal

Neste tipo de mecanismo de ação, o agente tóxico é, também, um antimetabólito. Ele é incorporado à enzima e sofre transformações metabólicas entrando em um processo bioquímico, dando como resultado um produto anormal, não funcional e muitas vezes tóxico. Em outras palavras, há a síntese de substâncias que não são farmacologicamente úteis e, dependendo da concentração deste produto anormal, pode haver morte celular, tecidual ou de sistemas biológicos. Tem-se como exemplo, o ácido fluoracético ($\text{CH}_2\text{-F-COOH}$), usado como rodenticida e que atua no organismo tomando o lugar do ácido acético no ciclo do ácido cítrico. Os processos metabólicos desenvolvem-se até à formação de ácido fluorocítrico (no lugar do ácido cítrico). Este produto anormal vai inibir a aconitase, enzima responsável pela etapa seguinte do ciclo. Assim, há formação de um substrato anormal, tóxico, que impede o desenvolvimento do ciclo do ácido cítrico, indispensável para o suprimento de energia de quase todos os organismos vivos.

3.1.4) Seqüestro de metais essenciais

Vários metais atuam como cofatores em vários sistemas enzimáticos, como por exemplo os citocromos, envolvidos nos processos de oxi-redução. Destacam-se o Fe, Cu, Zn, Mn e Co. Alguns agentes tóxicos podem atuar como quelantes, ou seja, se ligam ou seqüestram os metais, impedindo que eles atuem como cofatores enzimáticos. Desta maneira, o processo biológico, no qual estas enzimas atuam, ficará prejudicado ou mesmo interrompido. É o caso dos ditiocarbomatos. Eles se complexam com metais, formando complexos lipossolúveis e impedindo a ação enzimática. Este é o mecanismo de ação do Antabuse, medicamento usado, por muitos, no tratamento do alcoolismo.

3.2) Interferência com o transporte de oxigênio

A hemoglobina (Hb), pigmento responsável pelo transporte de O_2 dos alvéolos para os tecidos e da retirada de CO_2 dos tecidos para os pulmões, é constituída de uma parte protéica (globina) e outra não protéica (heme). No heme tem-se basicamente, uma molécula de Fe^{2+} ligada a quatro moléculas de protoporfirina. Este complexo ferroprotoporfirínico é o responsável pela coloração vermelha da Hb. Quimicamente o ferro possui 6 valências de coordenações, portanto no heme restam ainda 2 coordenações livres. Uma delas é ligada à globina formando a hemoglobina e a outra (a 6ª) é ligada ao O_2 , dando origem a oxemoglobina (HbO_2), que é o pigmento normal do sangue.

Existem alguns agentes tóxicos que alteram a hemoglobina e, conseqüentemente, impedem o transporte de oxigênio. São três os pigmentos anormais do sangue, ou seja, formas de Hb que são incapazes de transportar O₂.

-Carboxemoglobina (HbCO) que pode ser causada pelo CO, diclorometano, etc)

- Metemoglobina (MeHb) resultante, por exemplo da exposição a anilina, acetaminofeno, nitritos,etc;

- Sulfemoglobina (SHb), a droga oxidante metaclorpramida é exemplo de um agente sulfemoglobinizante.

No caso de carboxemoglobina, o monóxido de carbono, que tem 210 vezes mais afinidade pela Hb do que o O₂, liga-se à sexta coordenação do Fe²⁺, deslocando o O₂. Esquemáticamente, tem-se:



A HbCO é incapaz de exercer a função respiratória e efeitos decorrentes desta hipoxia vão aparecer no indivíduo exposto.

Existem vários xenobióticos tais como os nitritos, anilina e acetaminofem, que uma vez no sangue, oxidam os íons Fe²⁺ da hemoglobina, formando a chamada metemoglobina. O Fe³⁺ da MeHb perde a capacidade de se ligar na 6ª coordenação com o O₂ e, assim, este pigmento não cumprirá, também, a função respiratória. Dentro deste grupo de agentes tóxicos, que agem interferindo com o transporte de O₂, estão, ainda, os agentes que provocam a lise das hemácias. Com a hemólise, a hemoglobina é extravasada para o meio extracelular, onde é desnaturada. Haverá assim menor quantidade de Hb e logicamente menor transporte de O₂ para os tecidos.

3.3) Interferência com o sistema genético

3.3.1) Ação citostática

Alguns agentes tóxicos impedem a divisão celular e, conseqüentemente, o crescimento do tecido. Esta ação pode ser desenvolvida através de distintos mecanismos, tais como a inibição enzimática (já estudada) ou o encaixe entre as duplas hélices do DNA. Neste último caso estão as substâncias denominadas de Alquilantes, que ao se intercalarem entre as base de cada hélice, inibem o crescimento celular. São usadas no tratamento do câncer, mas não tem ação seletiva.

3.3.2) Ação mutagênica e carcinogênica

Certas substâncias químicas tem a capacidade de alterarem o código genético, ou seja, de produzirem um erro no código genético. Se esta alteração ocorrer nos genes de células germinativas, ou seja, que serão enviadas à próxima geração (células hereditárias), pode ocorrer um efeito mutagênico. Este efeito possui um período de latência relativamente grande, se manifestando apenas algumas gerações após a ação. Isto porque, geralmente, a mutação ocorre em genes recessivos e só será manifestada se houver o cruzamento com outro gen recessivo que tenha a mesma mutação. Logicamente, os estudos que comprovam esta ação são bastante difíceis de serem realizados e avaliados, o que faz com que, atualmente, poucas substâncias sejam, comprovadamente, mutagênicas. O mais comum é existir suspeita de ações mutagênicas.

A ação carcinogênica vem sendo mais intensamente estudada nos últimos anos. Nesta ação os xenobióticos provocam alterações cromossômicas que fazem com que as células se reproduzam de maneira acelerada. Esta reprodução incontrolável não produz células harmônicas e perfeitas. Embora o mecanismo exato de desenvolvimento do câncer não seja totalmente conhecido, aceita-se que esta ação ocorra em duas fases distintas: a conversão neoclássica ou fase de iniciação e o desenvolvimento neoclássico ou promoção. Na fase de iniciação, um xenobiótico ou produto de biotransformação promove a alteração a nível do DNA. Esta lesão origina a chamada célula neoplástica, que através da interferência de outras substâncias químicas e/ou fatores, muitas vezes desconhecidos, sofre processo de crescimento, originando o neoplasma e o câncer instalado. Entre as duas fases do processo carcinogênico existe, geralmente, um período de latência que pode variar de meses a anos.

A teratogênese resulta de uma ação tóxica de xenobióticos sobre o sistema genético de células somáticas do embrião/feto, levando ao desenvolvimento defeituoso ou incompleto da anatomia fetal.

(NOTA: neoplasma: massa ou colônia anormal de células. A neoplasia pode ser benigna (tumor não invasivo) ou maligna).

3.4) Interferência com as funções gerais das células

3.4.1) Ação anestésica

Um dentre os vários mecanismos que podem resultar em efeito anestésico, é a interferência com o transporte de oxigênio e nutrientes para as células biológicas. O xenobiótico se acumula na membrana de certas células, impedindo que haja a passagem destes nutrientes. As células mais sensíveis à essa deficiência são as do SNC, por necessitarem de maior quantidade destes compostos essenciais.

3.4.2) Interferência com a neurotransmissão

Na realidade, muitos dos mecanismos agrupados aqui podem decorrer de inibição enzimática, ou seja poderiam ser classificados no primeiro grupo de ação tóxica citadas no item 3.3.1.

Vários agentes tóxicos atuam alterando a transmissão neurológica através da interferência com os neurotransmissores envolvidos. esta interferência pode ocorrer a nível pré-sináptico, sináptico e/ou pós-sináptico. Exemplos:

- ⇒ bloqueio dos receptores de diferentes sinapses (curare);
- ⇒ inibição do metabolismo dos neurotransmissores (praguicidas organofosforados);
- ⇒ bloqueio na síntese ou metabolismo de neurotransmissores (mercúrio);
- ⇒ inibição da liberação da liberação pré-sináptica dos neurotransmissores (toxina botulínica - *Clostridium botulinum*);
- ⇒ estimulação da liberação de neurotransmissores (anfetamina)
- ⇒ bloqueio da recaptura dos neurotransmissores para as células pré-sinápticas (imipramina, anfetamina).

3.5) Irritação direta dos tecidos

Os xenobióticos que tem ação irritante direta sobre os tecidos, reagem quimicamente, no local de contato, com componentes destes tecidos. Dependendo da intensidade da ação pode ocorrer irritação, efeitos cáusticos ou necrosantes. Os sistemas mais afetados são pele e mucosas do nariz, boca, olhos, garganta e trato pulmonar. Destacam-se neste grupo, a ação dos gases irritantes (fosgênio, gás mostarda, NO₂, Cl) e lacrimogênicos (acroleína, Br, Cl). Outra ação irritante de tecidos é a dermatite química. Os xenobióticos que apresentam esta ação tóxica (substâncias vesicantes como as mostardas nitrogenadas ou agentes queratolíticos como o fenol), lesam a pele e facilitam a penetração subsequente de outras substâncias químicas.

3.6) Reações de hipersuscetibilidade

Corresponde ao aumento na suscetibilidade do organismo. Aparece após exposição única ou após meses/anos de exposição; os efeitos desta ação diferem essencialmente daqueles provocados pelo xenobiótico originalmente. Os principais tipos de reações de hipersuscetibilidade são:

3.6.1) Alergia química (sulfonamidas)

Este tipo de ação tóxica só é desenvolvida após absorção do xenobiótico pelo organismo e ligação com a proteína formando o antígeno (o agente tóxico funciona como hapteno). Com a formação do antígeno, ocorre, conseqüentemente, o desenvolvimento de anticorpos e do complexo antígeno/anticorpo. Este complexo se liga às células teciduais ou basófilos circulantes, sensibilizando-as, ou seja desenvolvendo grânulos internos, contendo histamina, bradicinina, etc. Quando ocorre uma segunda exposição do organismo ao mesmo xenobiótico, os anticorpos previamente desenvolvidos promovem a alteração da superfície celular com conseqüente desgranulização celular. Estes grânulos secretam na corrente sangüínea histamina e bradicinina, que são os responsáveis pela sintomatologia alérgica. Esta sintomatologia é bastante semelhante, independente do tipo de xenobiótico que a desencadeou. Os órgãos mais afetados são pulmões e pele.

3.6.2) Fotoarlegia (prometazina, sabões, desodorante hexaclorofeno)

As características deste tipo de ação tóxica são bastante semelhantes às da alergia química. A diferença primordial entre os dois é que, na fotoarlegia, o xenobiótico necessita reagir com a luz solar (reação fotoquímica), para formar um produto que funciona como hapteno. Após a sensibilização, sempre que houver exposição ao sol, na presença do xenobiótico, haverá o aparecimento dos sintomas alérgicos. É importante ressaltar que a fotoalergia só aparece após repetidas exposições.

3.6.3) Fotossensibilização (agentes branqueadores, furocumarinas)

Estes xenobióticos, quando em contato com a luz solar, formam radicais altamente reativos que produzem lesões na pele, muito semelhante às queimaduras de sol. Esta reação pode aparecer logo na primeira exposição. As lesões resultantes da fotossensibilização podem persistir sempre que houver contato com o sol, mesmo sem nova exposição ao agente químico.

4) BIBLIOGRAFIA

- AMDUR, M. O.; DOULL, J.; KLAASEN, C. D. - *Casareth and Doull's Toxicology-The basic science of poison*. 5^o ed., New York: Pergamon Press, 1996.
- ARIËNS, E.J.; LEHMANN, P.A.; SIMONIS, A.M. - *Introducción a la Toxicología General*. Ed. Diana, México, 1978
- LARINI, L. - *Toxicología* - 2^a Ed., Editora Manole, 1993.
- FREDDY HAMBURGUER; JOHN A. HAYES; EDWARD W. PELIKAN - *A guide to general Toxicology*., Karger Continuing Education series, V.5, 1983
- ERNEST HOGGSON & PATRICIA E. LEVI - *Introduction to Biochemical Toxicology*. 2^o ed. Appleton & Lange Norwalk, Connecticut, 1992
- FERNÍCOLA, N.A.G.G. - *Nociones básicas de Toxicología*, ECO/OPAS, México, 1985
- OGA, S. (Ed.) - *Fundamentos de Toxicología*. Atheneu: São Paulo, 1996