



Avaliação da toxicidade

Prof. Dr. Henrique Dipe de Faria

2019



Avaliação da Toxicidade

É a capacidade dessa substância de causar dano grave ou morte.



Toxicidade

- Dose
- Tempo de exposição
- Frequência de exposição
- Via de administração

Conhecimento das condições de uso seguro das substâncias para a saúde ambiental e humana

Toda substância pode ser usada de forma segura quando abaixo dos níveis de tolerância.

- AT altamente tóxico → efeito tóxico em ↓ []
- AT pouco tóxico → efeito tóxico em ↑ []

Avaliação da Toxicidade

AT + organismo = exposição → efeito no plano tecidual ou celular.

Efeito adverso ou tóxico: alteração anormal, indesejável ou nociva após a exposição a substâncias potencialmente tóxicas.
Ex: alterações no consumo de alimentos, variações no peso corpóreo ou de órgãos, alterações anatômico patológicas e de enzimas, morte.

O organismo tem a capacidade de tentar se adaptar às condições adversas, por um processo é chamado de homeostasia.

Quando o organismo não consegue se adaptar, tem-se o efeito tóxico.

Dose: quantidade de substância química administrada a um organismo vivo.

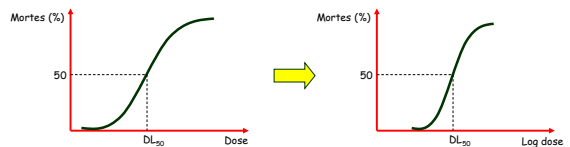
Dependendo da via de administração

Dose administrada ≠ Dose absorvida

Avaliação da Toxicidade

Relação dose-resposta

Descreve a relação entre as características de exposição e o espectro de efeitos tóxicos



Linear de 16 a 84% de morte

DL₅₀: dose necessária causar a morte de 50% de uma população teste. mg/Kg

Dose ou concentração limite: dose necessária para produzir uma resposta detectável numa população teste.

NOEL: dose que não são observados efeitos tóxicos

LOAEL: menor dose onde se observa efeito tóxico ou adverso

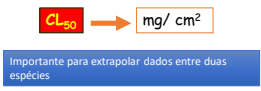
Avaliação da Toxicidade

Relação dose-resposta

Classificação da toxicidade segundo a comunidade Europeia.

Categoria	DL50 para ratos (mg/Kg de massa corpórea)
Muito tóxico	<25
Tóxico	De 25 a 200
Nocivo	De 200 a 2000

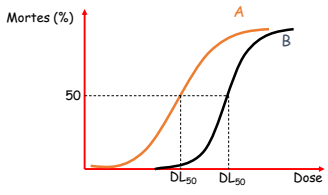
Obs: os valores de DL50 devem ser referidos com relação à via de exposição e excipiente porque esses fatores modificam a toxicocinética. Dizer qual a espécie animal.



Avaliação da Toxicidade

Relação dose-resposta

Avaliação da toxicidade em função da DL50.



Avaliação da Toxicidade

Relação dose-resposta

Fatores indispensáveis para estabelecer a curva DL₅₀.

- a) A resposta é inequivocamente devida ao AT.
- b) A resposta deve estar relacionada à dose.
- c) A avaliação da resposta deve ser feita por meio e métodos quantificáveis e expressar exatamente a toxicidade.

Outras considerações:

- a) Os valores de DL₅₀ não informam sobre o tipo de curva D-R.
- b) Necessita-se de um grande número de animais para ter dados precisos.
- c) Duas substâncias com mesma DL₅₀ podem ter diferentes valores de dose limite, indicando diferentes mecanismos de ação.

Avaliação da Toxicidade

Relação dose-resposta

Tendência: Substituir o teste de DL₅₀ pelo teste de dose fixa.

Teste de "dose fixa":

- a) A substância é administrada em animais numa dose específica.
- b) Após a administração, observar por 14 dias.
- c) A dose na qual se observam sinais de toxicidade é usada para classificar a substância.

Para a maioria dos compostos, tem-se que:

Categoria	Dose de compostos que produzem sinais de toxicidade sem morte/ mg/Kg	DL50 para ratos (mg/Kg de massa corpórea)
Muito tóxico	5	<25
Tóxico	50	De 25 a 200
Nocivo	500	De 200 a 2000

Avaliação da Toxicidade

Relação dose-resposta

Teste da "dose fixa". Como Fazer??

Usar 10 animais, sendo 5 machos e 5 fêmeas.

Etapa 1: - Administrar dose oral de 500 mg/Kg.

- Se não houver sinais de toxicidade, a substância não é classificada em nenhuma categoria.
- Se houver manifestação de toxicidade sem morte, classificar como substância nociva.
- Se houver morte, realizar a Etapa 2.

Etapa 2: - Administrar dose oral de 50 mg/Kg.

- Se houver manifestação de toxicidade sem morte, classificar como Tóxica.
- Se houver morte, realizar a Etapa 3.

Etapa 3: - Administrar dose oral de 5 mg/Kg.

- Se houver manifestação de toxicidade e ou morte, a substância é classificada como muito Tóxica.

Obs: caso a dose de 500 mg/kg não forem observados sinais de toxicidade, é necessário repetir o teste com doses de 2000 mg/Kg para avaliação total dos riscos.

Avaliação da Toxicidade

Testes Toxicológicos

Testes aplicados a animais de laboratório sob condições previamente estabelecidas que permitem estabelecer os possíveis efeitos das substâncias em humanos.

O conselho nacional de saúde estabelece 5 ensaios de toxicidade:

- Toxicidade aguda;
- Toxicidade subaguda;
- Toxicidade crônica;
- Teratogênese;
- Embriotoxicidade.

Avaliação da Toxicidade

Testes Toxicológicos

Os testes variam de país para país, mas basicamente incluem:

- | | |
|---|---|
| a) Informações preliminares; | f) Reprodução e teratogênese; |
| b) Toxicidade aguda; | g) Toxicocinética; |
| c) Toxicidade subcrônica (curta duração); | h) Efeitos locais sobre a pele e olhos; |
| d) Toxicidade crônica (longo prazo); | i) Sensibilidade cutânea. |
| e) Mutagênese e carcinogênese; | j) Ecotoxicidade. |

Requisitos para realização de testes toxicológicos em animais:

- # Os efeitos produzidos pelo AT no animal devem ocorrer também no homem.
- # a exposição dos animais ao AT é válida e necessária para a descoberta dos efeitos danosos ao homem.

Avaliação da Toxicidade

a) Informações preliminares.

Conhecer a substância que será submetida aos estudos de toxicidade.

Relação entre a toxicidade e a estrutura química.

Presença de impurezas quali e quanti.

Conhecimentos das propriedades físico-químicas:

odor
cor
ponto de fusão e ebulição.
pressão de vapor.
solubilidade
densidade
viscosidade.
volatilidade.

Conhecimento de dados relativos aos possíveis níveis de exposição da população ao AT.

Informações sobre a mobilidade da substância no ambiente.

Avaliação da Toxicidade

b) Estudos de toxicidade aguda

Efeitos adversos observados dentro de um curto intervalo de tempo após administração de uma única dose ou doses múltiplas dentro de 24 h.

Dose única → avaliar casos de envenenamento acidental.

Doses múltiplas → avaliar efeito de acumulação.

Objetivos: - caracterizar a DL_{50} .
- Conhecer o mecanismo de ação da substância.
- Identificar órgão e sistemas alvo.
- Verificar se os efeitos são reversíveis.

Obs: Os estudos são normalmente por via oral.

Avaliação da Toxicidade

c) Estudos de toxicidade subcrônica

Avaliar a toxicidade após exposições repetidas.

Objetivos: - estabelecer os níveis em que **não se observam efeitos tóxicos**.
- Identificar e caracterizar os órgãos afetados e a severidade após exposições repetidas.
- Examinar os efeitos após o tratamento e verificar se o efeito se deve à acumulação do AT.
- Verificar se os efeitos são reversíveis.
- determinar se um efeito particular (ex: neurotoxicidade) necessita de testes posteriores específicos.
- definir as melhores doses para o teste de toxicidade crônica.

Avaliação da Toxicidade

c) Estudos de toxicidade subcrônica

Como fazer?

No mínimo 21 dias. O mais comum é 90 dias.

Mais comum é por via oral.

Deve ser realizado em pelo menos 2 espécies sendo uma não roedora.

No mínimo três doses.

Avaliar os animais todos os dias.

Sempre incluir um grupo controle.

Parâmetros: - modificação no consumo de ração.
- peso.
- textura e cor dos pelos.
- alterações circulatórias e respiratórias.
- anormalidades motoras e comportamentais.
- aumentos macroscópicos de massas e tecidos.

Antes e durante o experimento serão feitas avaliações hematológicas e bioquímicas do sangue e exames de urina.

Ao término dos experimentos os animais sobreviventes serão sacrificados e os órgãos serão submetidos a avaliação anatomo-patológica.

Avaliação da Toxicidade

d) Estudos de toxicidade crônica

Usados para determinar o efeito tóxico após exposições prolongadas a doses cumulativas.

Como fazer?

Tempo superior a 3 meses: - Roedores de 6 meses a 2 anos.

- Não roedores em geral 1 ano.

Via oral mas podem ser outras.

Pelo menos duas espécies.

50 animais por dose por sexo.

Pelo menos 3 doses.

Obs: é importante escolher bem a dose para evitar mortes prematuras.

Avaliação da Toxicidade

d) Estudos de toxicidade crônica

Usados para determinar o efeito tóxico após exposições prolongadas a doses cumulativas.

Avaliações durante o teste.

Exame clínico cuidadoso 2 vezes / dia.

Anotar peso, consumo de ração, sinais e sintomas a cada semana durante 13 semanas.

Hematocrito, hemoglobina, contagem total e diferencial de leucócitos no início, após 6 meses e no final da exposição.

Análise de urina e parâmetros bioquímicos no início, após 6 meses e no final.

exames histopatológicos.

Avaliação da Toxicidade

e) Estudos de mutagênese e carcinogênese

1) Mutagênese:

Propriedades das substâncias de causar modificações no material genético das células durante a divisão.

Teste in-vitro: Teste de Ames (1975).

Mutações pontuais em cepas mutantes de *Salmonella typhimurium* carentes da enzima fosforribosil ATP sintetase necessária à síntese de histidina.

Teste in-vivo:

- 1) Observação de danos a cromossomas de células de medula óssea em metafase.
- 2) Aparecimento de micro-núcleos em linfócitos de sangue periférico.
- 3) Teste do dominante letal (capacidade do AT de alterar os espermatozoides de ratos).

Avaliação da Toxicidade

e) Estudos de mutagênese e carcinogênese

1) Carcinogênese:

Os testes mutagênicos podem ser utilizados para prever o desenvolvimento de câncer. Porém eles avaliam somente a manifestação de câncer por mecanismos genotóxicos.

Outras substâncias causam câncer por mecanismos não-genotóxicos.

Teste de carcinogênese:

Usar a maior dose tolerada.

Realizar em caso de exposição a longo prazo.

Avaliação da Toxicidade

f) Reprodução e teratogênese

Estudo de efeitos adversos:

- antes da concepção
- durante o desenvolvimento perinatal.
- durante o desenvolvimento pós-natal.

Teratogênese: Estudo das alterações que ocorrem entre a concepção e o nascimento.

Toxicologia da reprodução: estudo de efeitos adversos que ocorrem nos sistemas reprodutores masculino e feminino devido à exposição ao AT.

Objetivos:

- avaliar a fertilidade.
- desempenho para reprodução.
- potencial teratogênico.
- Toxicidade peri e pós-natal.
- efeitos sobre o sistema reprodutivo.

Avaliação da Toxicidade

f) Reprodução e teratogênese

Teste de teratogênese: O AT deve ser administrado em animais prenhes em altas doses durante a organogênese.

Teste de embriogênese: o AT deve ser administrado em doses menores durante a gestação.

Avaliação da Toxicidade

g) Estudo de toxicocinética

Objetivo: Avaliar e conhecer o comportamento toxicocinético do AT.



Boa extrapolação dos resultados para humanos.
Levar em conta diferenças e similaridades no metabolismo de um AT.

Porque?

- Diferenças em metabolismo.
- Diferenças em distribuição.
- Etc....

Avaliação da Toxicidade

h) Estudo de efeitos locais sobre a pele e os olhos

Indicação: Cosméticos ou exposições acidentais.

Animal de escolha: Coelho (mais sensível / maior margem de segurança).

Teste de Draize (1944)

Pele: eritema, escara, edema e corrosão

Olhos: alterações na conjuntiva, córnea, íris e cristalino.

Três tipos de irritações

- Irritação local ou aguda (resposta reversível ou local após exposição única).
- Irritação cumulativa (resposta dérmica de exposição repetida).
- Irritação induzida fotoquimicamente (luz induzindo modificações moleculares na pele)

Avaliação da Toxicidade

i) Estudo de sensibilidade cutânea

Necessário quando houver contato repetido com a pele.

Animal de escolha = coelho ou cobaias.

Como é feito:

- Tratamento com doses repetidas da substância, com ou sem adjuvante, por duas semanas.
- Após três semanas da última exposição, os animais são submetidos a uma dose não irritante e o aparecimento de edema é monitorado.

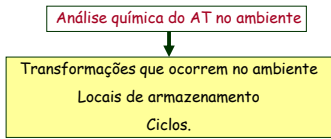
Tipos de teste:

- Com uso de adjuvante completo de Freund (ACF) = potencializador da sensibilização.
- Sem uso de adjuvante.

Avaliação da Toxicidade

j) Estudos de ecotoxicidade

Estudo dos efeitos adversos em organismos vivos causados por substâncias químicas liberadas no meio ambiente.



Parâmetros importantes:

- i) Amostragem
 - ii) Escolha da técnica
 - iii) Análise.
- Monitorização biológica

Avaliação da Toxicidade

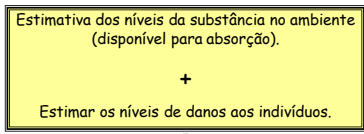
j) Estudos de ecotoxicidade

Fatores para avaliar o risco ambiental de uma substância:

- i) Efeitos químicos
- ii) Potencial de biodegradação.
- iii) Testes de toxicidade aguda.
- iv) Teste de toxicidade crônica;
- v) Desaparecimento da atmosfera, águas, rios,...
- vi) Bioacumulação.
- vii) Eutroficação.
- viii) Avaliação de solo, lodo e sedimentos.
- ix) Efeitos físicos.

Avaliação da Toxicidade

j) Estudos de ecotoxicidade



Margem de segurança

Avaliação da Toxicidade

Finalidades dos testes toxicológicos

Fornecer dados que possam ser utilizados para a avaliação do risco do uso do AT para o homem

Fator crítico!!
Extrapolar os dados para o homem.

Fator de segurança
(de 1 a 5000)

- depende do AT.
- Tipo e tamanho da população.
- Quantidade e qualidade das informações