

Postgrado

# Mecanismo de toxicidad

**Dr. Mazzarini, Luis Alejandro**

lamazzarini2@gmail.com

**SAMBYH - AMA**



# Daño inducido por drogas

Mecanismo donde las sustancias interactúan con componentes de células y provocan tóxicos.

**Punto de no retorno:** Muerte celular.

**Ej.: Hepatotoxicidad del tetracloruro de carbono**



# Principle of Biochemical Toxicology.

John A. Timbrel

Divide en estadíos que siguen a la exposición de la célula con el compuesto tóxico:

**PRIMARIO**

**1**

**SECUNDARIO**

**2**

**TERCIARIO**

**3**

## **EVENTOS SECUNDARIOS**

**1**

> Inicio del daño.

## **EVENTOS SECUNDARIOS**

**2**

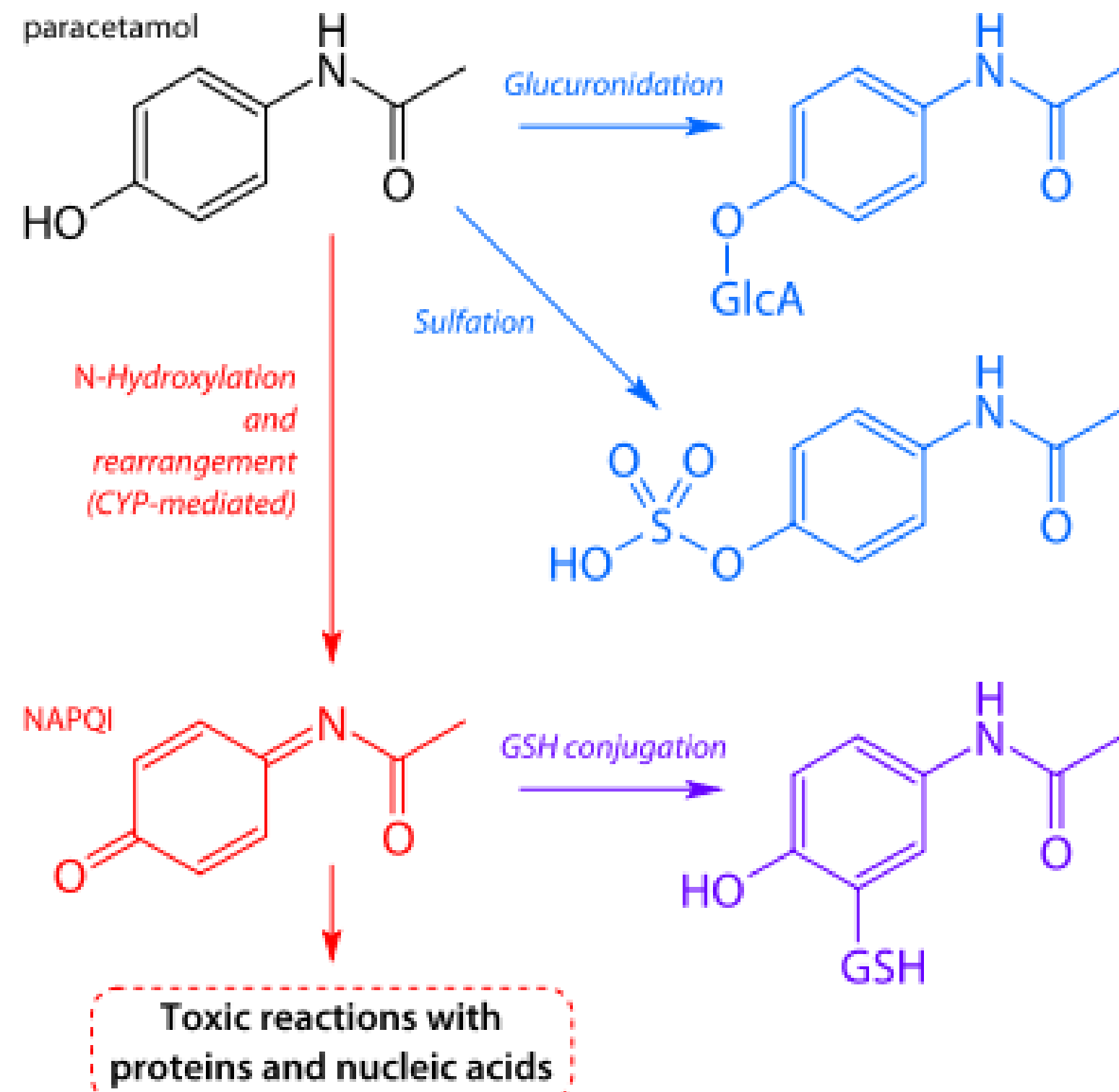
> Cambios celulares que continúan.

## **EVENTOS TERCIARIOS**

**3**

> Expresiones visibles de esas alteraciones.

## EVENTOS PRIMARIOS



### Metabolitos reactivos:

Formas más reactivas para poder expresar toxicidad.

### ¿Qué significa?

Significa que, si no hubiera metabolismo, estas sustancias **no serían tóxicas**.

En otros casos, no es necesario la biotransformación a formas reactivas.



**VIDEO EXPLICATIVO:**

<https://www.youtube.com/watch?v=rul-iQoPwXU>

**Ejemplo:** El daño hepático que produce el paracetamol luego de una activación metabólica.

1

# EVENTOS PRIMARIOS

- La peroxidación de lípidos
- La unión covalente (irreversible) a macromoléculas
- Los cambios en los grupos tiol celulares
- La inhibición de enzimas
- La isquemia

# EVENTOS SECUNDARIOS

2

Cambios **bioquímicos** o **estructurales**,  
parámetros evaluados que están, a veces, relacionados entre si.

Existe la posibilidad de que estos cambios  
sean **consecuencia del daño y no causantes del mismo**,  
al igual que la pérdida de control por parte de la célula  
o su incapacidad para compensar esas alteraciones primarias.

# EVENTOS SECUNDARIOS

2

## Ejemplo para analizar:

Luego de exponer un hepatocito durante 3hs a CCL4 se observa una **desorganización del RER**, lo que es coherente por una **pérdida simultanea de varias actividades enzimáticas** como el P450, la glucosa-6-fosfatasa y la síntesis de proteínas.



# EVENTOS SECUNDARIOS

2

Daño mitocondrial;

**Cambios en el citoesqueleto;**

Cambios en la estructura de las membranas y su permeabilidad;

**Inhibición de la función mitocondrial;**

Disminución del ATP y de otros cofactores;

**Cambios en la concentración de calcio;**

Daños al ADN y la ribosilación del poliADP;

**Estimulo a la apoptosis;**

Daño al retículo endoplasmico.

# EVENTOS TERCIARIOS

3

**Manifestaciones a nivel celular  
observables de la exposición al tóxico.**

**Simultáneamente**

**En cascada**

# EVENTOS TERCIARIOS

3

Los mas relevantes son:

**La esteatosis y el cambio graso**

**La degeneración hidropica**

**El “blebling”**

**La apoptosis**

**La necrosis.**

Son reversibles potencialmente, excepto los dos últimos.

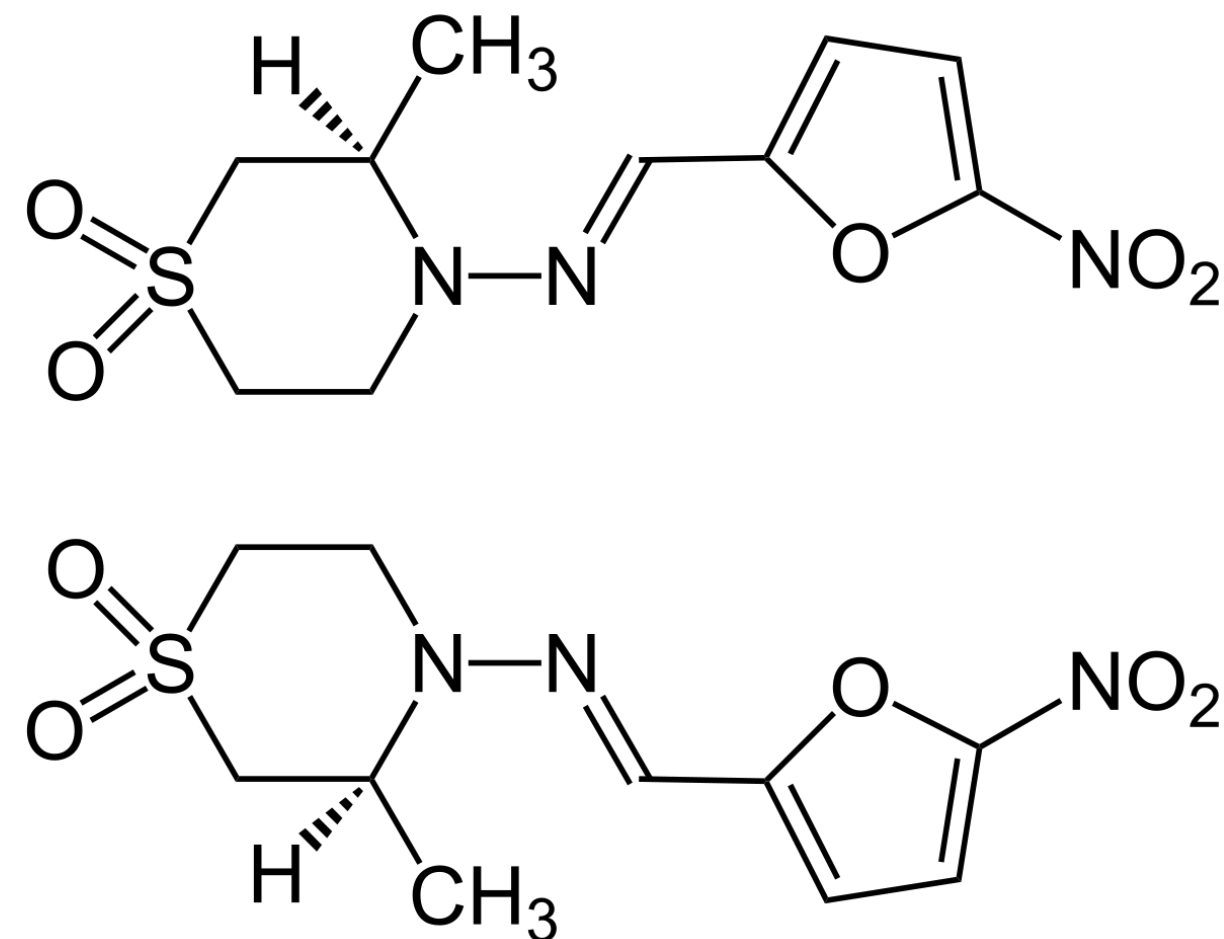
# Eventos oxidativos

## Cuando se producen especies reactivas de oxígenos.

Puede conducir a un ciclo de oxidación y reducción con electrones que reciben las moléculas de O<sub>2</sub> para generar anión (radical) superóxido.

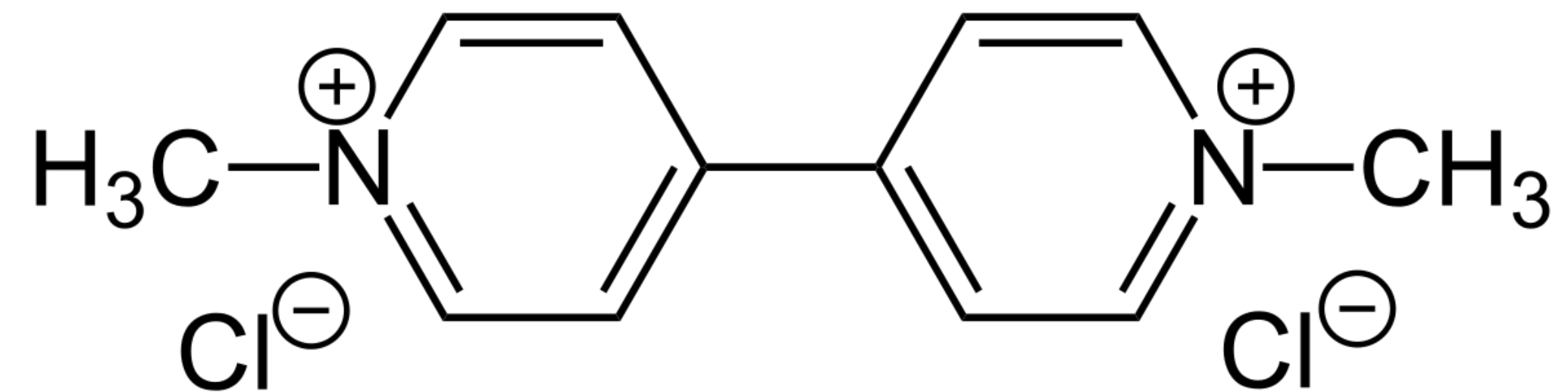
Ejemplo de nitrocompuesto:

**Nufurtimox** (antichagacico)



Ejemplo de otro compuesto  
y estructura quinónica:

**Paraquat** (Herbicida)



# Unión covalente a macromoléculas

Radicales libres

iones carbonio

## ELECTROFÍLICOS

**Ambos son afines a combinarse con moléculas ricas en electrones**

**Reaccionan con proteínas, lípidos y ácidos nucleicos**

generando su estructura química,

generando un **daño celular irreversible,**

**alteraciones en el material genético, las mutaciones**

**y la consecuente inducción de tumores.**

# Inhibición de enzimas

**Consecuencia mas frecuente en los procesos tóxicos, menos cuando la inhibición de un solo paso enzimático es el evento primario critico de la citotoxicidad.**

## **EJEMPLOS:**

- Inhibición del citocromo aa3 por el cianuro por bloqueo de la respiración celular.
- Interrupción del ciclo de krebs por el flúor citrato a nivel de la aconitasa.
- Inhibición de síntesis de proteínas (como las tetraciclinas).
- Inhibición de la Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa provocará una disminución en el stock de NADPH con su consecuente efecto sobre el stock de glutatión y sobre las reacciones metabólicas dependiente del P450.

# Alteración del estatus de grupos tiol

Reacción de intermediarios reactivos con el glutatión ya sea directa o catalizada por la enzima glutatión transferasa.

Si esta reacción es muy intensa, habrá reducción del stock de la enzima. Lo que produce un glutatión oxidado (GSSG) fuera de la célula y se pierde.

## ¿Cómo?

El glutatión puede consumirse de modo reversible por oxidación o de modo irreversible por conjugación con moléculas extrañas o por pérdida (GSSG) fuera de la célula.

# Isquemia

Interrupción/reducción en la provisión de oxígeno a los tejidos junto a nutrientes que puede llevar a daño/muerte celular si la situación se prolonga (**hipoxia o anoxia**).

**Ejemplo: intoxicación por nitritos que produce metahemoglobinemia.**

**Se reduce el flujo de sangre** por una dosis aguda de cadmio que **causa una vasoconstricción del plexo pampiniforme**. Se genera un **Swelling (hinchazón)** que restringe el espacio para los vasos a las células sinusoidales del hígado, provocando los alcaloides pirrolizidínicos que llevan a una **necrosis isquémica** fundamentalmente **centrolobulillar**.



## Cambio en la estructura de la membrana y su permeabilidad.

La peroxidación de lípidos que lleva a la alteración de la estructura de la membrana haciendo perder la fluidez y selectividad.

### **Ejemplo:**

Los grupos sulfidrilos pueden ser el blanco de iones pesados como el mercurio en paredes de los túbulos renales o el metil mercurio en el SNC.

# Cambio en la estructura de la membrana y su permeabilidad.

## ¿Cómo puede detectarse?

Microscopia electrónica  
como una disrupción del retículo endoplasmico o en el hinchazón de la mitocondria.

## Resultado:

- > Alteración en las concentración de calcio intracelular.
- > Intercambio iónico que lleva al hinchazón de la célula por entrada de agua (degeneración hidrópica).

**Pero, antes de llegar a estos cambios casi irreversibles ocurre, un “blebbing”.**

# Cambio en la estructura de la membrana y su permeabilidad.

## Si queremos indagar un poco más:

Los cambios de la membrana pueden detectarse **in vitro** por **pérdida de iones** (como el potasio), de **enzimas** (como el lactato deshidrogenasa) y por la **captación de colorantes** que no sucedería en situaciones normales (como el azul Tripan).

**En los lisosomas, los cambios en la membrana llevan a secuelas muy graves debido a la liberación de enzimas degradativas.**

# Cambio en el citoesqueleto

## Daño específicamente por comp. Tóxicos:

**Faloidina y citocalasinas** (sust. aisladas de hongos) que, al no poder despolimerizarse, promueven la pérdida de calcio desde el interior de la célula.

## Ejemplo:

El “**blebbling**” en la superficie celular de los hepatocitos expuestos a la faniodina.

El nivel intracelular del calcio es importante, ya que su aumento contribuye al Blebbling, pero **no todos los cambios del citoesqueleto se deben a cambios en la homeostasis del calcio.**

# Daño mitocondrial

## e inhibición de la función mitocondrial



Mitocondria se vuelve un blanco para las toxinas y puede verse alterada estructuralmente mediante ME.

### **Ejemplo:** Hepatotoxicidad del tetracloruro de Carbono

Muestra “shelling” (hinchazón), alterando la permeabilidad de la membrana mitocondrial. Tenemos cambios tanto en la **estructura** como en la **función**.

**Estos últimos** causan el shelling, permitiendo la entrada de fluidos del Ext. al int. Esta se expande y la crestas se desdibujan. Se produce una contracción de la mitocondria asociada a un aumento de la relación ADP-ATP, tal como ocurre luego de una **anoxia**.

# Daño mitocondrial

## e inhibición de la función mitocondrial

Daño mitocondrial > Liberación de calcio al citoplasma > Aumento del calcio citosólico

El aumento del calcio es un factor clave en el mecanismo del **daño celular**.

El “swelling” y la disrupción de la estructura mitocondrial ocurren antes de la muerte celular, llevando de esta forma tanto a la **necrosis** como a la **apóptosis**.

### En resumen:

La **apertura** de los **canales mitocondriales** y por lo tanto **la disipación del gradiente electroquímico** lleva a una **disminución** en el **ATP** y a un **aumento en el calcio** que precedería a la **necrosis** o a la **apoptosis**.

# Daño en el retículo endoplasmático

El retículo endoplasmico liso es el sitio donde ocurren muchas transformaciones oxidativas reductivas e xenobiótico.

Se trata de un **sitio vulnerable al ataque de metabolitos** muy reactivos, ya que los mismos **no pueden viajar muy lejos sin reaccionar con alguna macromolécula en el camino.**

# Disminución del ATP y de otros cofactores

Es causada por muchos compuestos tóxicos con variedad de cambios bioquímicos. La más frecuente es **por interferencia con la fosforilación oxidativa.**

El daño en el ADN puede activar la poli (ADP-ribosa) polimerasa y consumir el stock de ATP.

La falta de ATP compromete el transporte activo desde y hacia fuera de la célula, **el caso más relevante es el del balance de } de Na, K y Ca.**

También **afecta procesos bioquímicos** (síntesis de proteínas, gluconeogenesis y síntesis de lípidos).

Esto puede significar que **los hepatocitos no produzcan suficiente bilis** o que **los túbulos renales proximales no reabsorban eficientemente** aminoácidos esenciales o glucosa.



# Cambio en la concentración de calcio



Es probablemente **el más importante** entre los cambios celulares que conducen al **daño celular irreversible**.

Toxicidad del CCl<sub>4</sub> y del paracetamol en los hepatocitos.

Toxicidad del plomo y del metil mercurio.

Toxicidad de la TCDD hacia las células cardíacas y del timo.

Todos **casos** donde la **acumulación del Calcio** juega el papel **clave**.

# Esteatosis y cambios grasos

La acumulación de grasa es un tipo muy común de respuesta celular a los tóxicos, normalmente reversible.

La interferencia con el mtb de los lípidos puede ocurrir en:

Inhibición de la excreción de lípidos (**VLDL= lipopr. muy baja densidad**)

Incremento en la síntesis de lípidos o en su captación. **Ej. Hidracina.**

Mtb de los lípidos disminuido. Disminuye la velocidad de oxidación a nivel mitocondrial inducida por el alcohol.

Deficiencias de vitaminas.

# Degradación **hidrónica**

**Swelling de una célula debido a la entrada de agua.**

El balance osmótico de la célula se mantiene con procesos activos que controlan los gradientes de iones.

Recordemos las **concentraciones de Ca y Na** se mantienen **muy bajas respecto del medio extracelular** (opuesto al K), lo cual **requiere de un continuo gasto de energía**. (provisión de ATP).

Una **inhibición** de la **ATPasas** o de la **síntesis de ATP** provocará un **desbalance en los gradientes iónicos**.

La presión osmótica mayor causará que el agua entre a la célula hinchándola. **Si el fenómeno persiste dañará las organelas citoplasma.**

# Blebbing de la membrana plasmática

Cambio morfológico temprano observable tanto **In Vitro** como **in vivo**.

Aparecen antes de que se altere la permeabilidad de la membrana.

En principio, reversibles, Pero si el daño es intenso se vuelven irreversibles y los “blebs” se rompen.

**Al ocurrir esto la permeabilidad se altera radicalmente y la célula muere.**

## Las causas del daño celular pueden ser:

La interacción de proteínas del citoesqueleto, la modificación en los grupos sulfhídricos y el aumento del calcio citosólico.

**Este daño celular tiene dos perfiles distintos de cambios morfológicos, la apoptosis y la necrosis**

# Apóptosis

**Es un proceso ordenado de:**

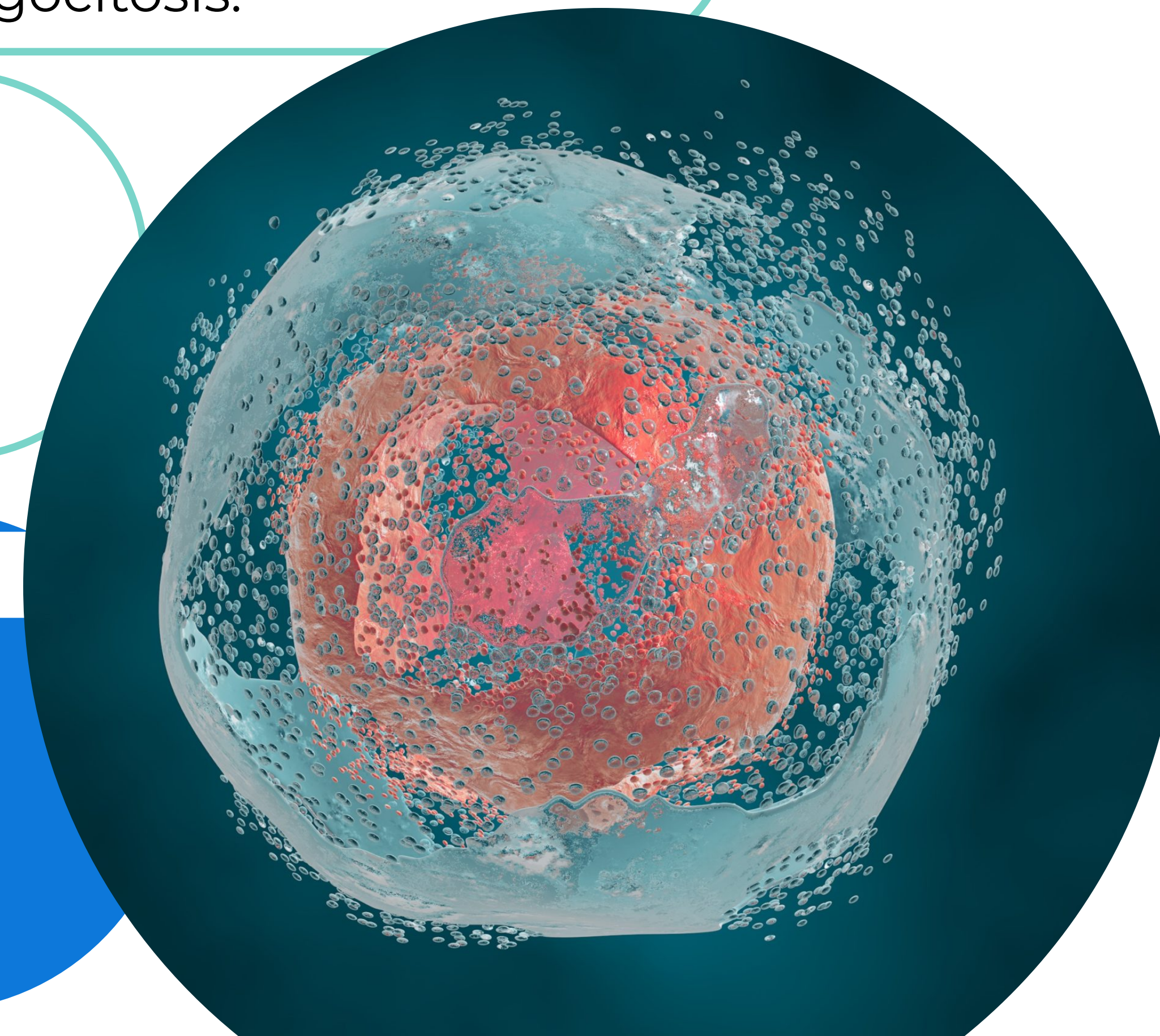
Contracción y condensación celular ,  
blebbling y fagocitosis.

Programa de muerte celular normal  
para mantenimiento y renovación de tejidos.

**Sin embargo, muchas sustancias tóxicas**  
pueden estimular la apoptosis  
y llevarla a un daño celular letal.

Ejemplo:

**Glucocorticoides** provocan un daño celular  
en el **ADN** que, si los mecanismos de reparación **fallan**,  
comienza el proceso de **apoptosis**,  
y si el daño celular es muy grave,  
el programa aborta y sobreviene la **necrosis**.



# Necrosis

## **Daño irreversible**

seguido por **cambios degenerativos** que incluyen la **hidrólisis de los componentes celulares** y la **desnaturalización de proteínas**.

## **¿Cuáles cambios?**

Swelling de las mitocondrias y del reticuloendosplasmico, aparición de vacuolas y acumulación de fluidos.

# Mecanismos de **protección** de la **célula**

**Metabolitos reactivos, Peroxidación de lípidos** y distintas estrategias de la célula para **defenderse**, ya sea **previniendo** o **minimizando** sus **consecuencias** (si ya ocurrieron).

**MUCHAS GRACIAS.**

**Dr. Mazzarini, Luis Alejandro**

lamazzarini2@gmail.com

**SAMBYH - AMA**

