

DIPARTIMENTO FARMACIA

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

CORSO DI LAUREA: CHIMICA E TECNOLOGIA FARMACEUTICHE

DOCENTE prof.ssa Raffaella Sorrentino

INSEGNAMENTO

TOSSICOLOGIA E SAGGI E DOSAGGI FARMACOLOGICI (Matr. dispari)

Tipologia di insegnamento caratterizzante

Crediti formativi (CFU) 10

Settore Scientifico disciplinare (SSD) BIO-14

Posizionamento nel calendario didattico II SEMESTRE DEL 4° anno

Prerequisiti Per poter meglio affrontare lo studio di questa materia lo studente deve essere a conoscenza delle nozioni anatomo-fisio-patologiche e di farmacologia.

Propedeuticità FARMACOLOGIA GENERALE E FARMACOTERAPIA

Commissione d'esame: Prof.ssa Raffaella SORRENTINO (Presidente); Prof.ssa Roberta d'EMMANUELE DI VILLA BIANCA, Dr.ssa Gabriella AVIELLO, Dr.ssa Emma MITIDIERI (Componenti)

Collaboratori di supporto all'attività didattica: Dr Domenico Vanacore; Dr.ssa Carlotta Turnaturi (dottorandi), Dr Emma Mitidieri

OBIETTIVI FORMATIVI

Il Corso ha lo scopo di fornire i principi fondamentali atti a progettare e sviluppare una sperimentazione farmacologica, attraverso la conoscenza sia dei fondamenti della statistica applicata alla biologia che delle metodiche più comuni utilizzate nella sperimentazione farmacologica. Il Corso comprende una parte teorica, e teorico pratica (farmacologica e di statistica) ed una pratico-dimostrativa di alcuni modelli riguardanti la sperimentazione farmacologica. In merito alla parte di Tossicologia il Corso ha lo scopo di fornire le conoscenze di base della tossicologia. In particolare, verranno fornite le conoscenze per la valutazione della pericolosità per la salute umana delle principali classi di tossici naturali e sintetici, additivi alimentari, contaminanti chimici presenti nell'ambiente (aria, cibo e suolo). In particolare, verranno trattati i principali meccanismi di tossicità cellulare e le tossicità d'organo più frequenti.

PROGRAMMA DEL CORSO

Cenni di statistica applicata alla biologia (1CFU); Metodo di campionamento: randomizzazione. Variabilità biologica: distribuzione gaussiana. Media, moda e mediana. Devianza. Varianza. Deviazione standard. Errore standard. t di Student. Limiti fiduciali. Confronto tra due popolazioni: indice di t di Student; χ^2 (chi quadro); analisi della varianza). Retta di regressione: equazione della retta, coefficiente di correlazione.

Parte speciale (5CFU)

Concetti generale La sperimentazione farmacologica in vitro (tessuti in bagnetti per organi isolati, tessuti in cascata, organi in perfusione) ed in vivo: generalità, modalità di esecuzione e valutazione dei risultati. Animali da laboratorio: tipi, approvvigionamento, stabulazione e manipolazione. Legislazione per la sperimentazione animale (DLgs_26_2014). Legge che regola l'obiezione di coscienza (DLgs 12 ottobre 1993 n. 413 "Norme sull'obiezione di coscienza alla sperimentazione animale"). Colture cellulari: cenni, scelta del tipo di cellule (cultura primaria o secondaria) e metodi alternativi.

Modelli di studio relativi a specifiche attività farmacologiche

Per una migliore comprensione delle tecniche sperimentali di seguito riportate ci si avvarrà di supporti audiovisivi.

Attività antipertensiva Vitro Preparati di muscolatura liscia vasale: striscia ed anelli di vasi arteriosi e venosi. Mesenterio isolato e perfuso, ileo di cavia. Atrio isolato di cavia, cuore isolato alla Langendorff, working heart. Vivo Misurazione della pressione in maniera cruenta ed incruenta. Modelli sperimentali di ipertensione, genetica, doca salt, chirurgica: Goldblatt, coartazione dell'aorta, ipertensione surrenalica; ipertensione acuta renale. Ischemia e riperfusione cardiaca.

Attività antiaggregante Vitro Metodo di Born, adesione piastrinica. Vivo Sopravvivenza delle piastrine marcate, metodo di Pinon, shunt atero-venoso (trombo rosso), induzione del trombo bianco

Modelli di induzione del diabete Modelli di diabete di tipo I e II, modelli di insulino resistenza.

Attività antinfiammatoria Vitro separazione dei polimorfonucleati dal sangue, prelievo di macrofagi alveolari e peritoneali residenti o elicitati. Test per valutare la chemiotassi, l'adesività e la diapedesi (aggregazione di leucociti polimorfonucleati). Vivo (di tipo non immune) Edema nella zampa di ratto, eritema da raggi UV, permeabilità vascolare, pleurite, infiammazione polmonare, sacca d'aria, granuloma, edema nell'orecchio da croton oil, adesività piastrinica in vivo. Vivo (di tipo immune) Reazione di Schwartzman, reazione di Arthus, artrite da adiuvante di Freund, colite da DSS, shock settico indotto da LPS.

Attività broncodilatatoria-antiasmatica Vitro parenchima polmonare, anelli di trachea, polmone isolato e perfuso. Vivo broncospasmo, misurazione della pressione intratoracica, iper-reattività bronchiale.

Attività antitussiva Vivo irritazione locale di tipo meccanico o chimico, stimolazione elettrica del nervo glosso-faringeo.

Attività analgesica centrale e periferica Vitro digiuno di coniglio, ileo di cavia alla Trendelenburg. Vivo tail clip, tail flick, piastra calda, immersione della coda, test della formalina, Writhing test, Randall-Selitto, legatura del nervo sciatico (dolore neuropatico). Tolleranza da oppioidi, depressione respiratoria nel coniglio.

Attività valutabili sul tratto gastrointestinale Valutazione dell'attività salivare, attività neutralizzante in "provetta", attività antiacida in vitro ed in vivo. Motilità gastrica in vitro ed in vivo. Motilità intestinale in vitro ed in vivo. Induzione dell'ulcera in vivo: ulcera chimica, ulcera da farmaco, ulcera da stress, ulcera alla Shay.

Attività ansiolitica Vivo Test di Vogel, test Geller-Seifter, inibizione dell'evitamento passivo, test di interazione sociale. Valutazione dei livelli di catecolamine nel plasma.

Attività antidepressiva Vitro Inibizione dell'uptake della [3H] noradrenalina nel cervello di ratto
Vivo test di reversione alla reserpina, ipotermia indotta da reserpina, test di letalità alla yohimbina, modello di separazione (scimmia), test di Porsolt, killer rat.

Attività antiepilettica Vitro Valutazione dell'attività GABA mediata: GABA-Uptake e GABA-release, fettine di cervello di ratto elettrostimolate. Vivo shock elettroconvulsivo, epilessia indotta da sostanze chimiche.

Attività antitumorale. In vivo, modelli xenograft, cancerogenesi del colon indotta da AOM o DSS/AOM, modelli animali di cancro del colon (Apcmin/+, Il10-/-).

Valutazione della coordinazione motoria e attività neuromuscolare Vivo Rotarod method, Grip Strength Meter.

Valutazione della memoria e apprendimento. Water maze test, T maze test, radial maze test

Altri preparati in vitro Preparazioni di muscolatura scheletrica: nervo frenico-diaframma di ratto. Colon di ratto.

TOSSICOLOGIA (4CFU)

Cenni di tossicologia generale Definizione e scopo della tossicologia. Tipi di tossicità: locale e sistemica; acuta, subacuta e cronica. Tossicocinetica e tossicodinamica. Metabolismo: induzioni e inibizioni metaboliche, in attivazione suicida, prostaglandina endoperossido sintetasi, il sistema del glutatione. Genotossicità cenni: mutazioni genetiche, mutazioni cromosomiche. Cancerogenicità: composti DNA-reattivi, composti epigenetici, geni onco-soppressori, proto-oncogeni. Teratogenesi, Mutazioni genetiche e polimorfismi tossicologicamente rilevanti: esempi. Citotossicità: stress ossidativo, lipoperossidazione, danno mitocondriale, alterazione dell'omeostasi del calcio.

Valutazione e caratterizzazione del rischio: Dose Giornaliera Ammissibile (ADI), Virtually Safe Dose (VSD), NOAEL (No Observed Adverse Effect Level), SF (Safety Factor), Massima Dose Tollerabile (MTD).

Effetto tossicologico degli inquinanti ambientali CO, CO₂, ossidi di azoto, ozono, ossidi di zolfo, idrocarburi, diossine, tossicità da metalli: mercurio, piombo, arsenico, cadmio, mercurio, rame, amalgama stomacale; composti chimici di uso agricolo, tossine di origine animale e vegetale (tossine batteriche, micotossine, fitotossine), radiazioni, nitrati/nitriti.

Meccanismi di tossicità di alcune molecole (o farmaci) potenzialmente tossiche: Pesticidi; Solventi; Composti Alogenati; metalli essenziali e non essenziali (Ferro, Rame, Zinco, Piombo, Mercurio, Arsenico, Cromo, Cadmio, Nichel, Alluminio etc); idrocarburi aromatici policiclici (IPA); Policlorobifenili (PCB) e diossine policlorurate (PCDD). tetraclorodibenzodiossina (TCDD). Esempi di sostanze chimiche di sintesi o naturali: benzene, benzopirene, acetilaminofluorene, tetracloridibenzodiossina, tetracloruro di carbonio, cloroformio, cianuri, etanolo, metanolo, aflatoxina B, dietilstilbestrolo. Tossicità alimentare: Additivi alimentari, contaminanti biologici.

Tossicità d'organi e sistemi Immunotossicità, ematotossicità, tossicità del sistema endocrino, tossicologia dello sviluppo e della riproduzione, tossicità epatica, nefrotossicità, neurotossicità, tossicità polmonare, cardiovascolare, cutanea e oculare.

TESTI E MATERIALE DIDATTICO CONSIGLIATO

Bio-statistica:

Lamberto Soliani. Statistica di Base PICCIN editore

Luigi Cavalli Sforza. Analisi statistica per medici e biologi- Serie di biologia e medicina. BORINNGHIERI.

Saggi e Dosaggi Farmacologici e Tossicologici:

Dolara P., Franconi F., Mugelli A.: Farmacologia e tossicologia sperimentale. Pitagora Editrice Bologna.

Dale M.M., Foreman J.C.: Manuale di immunofarmacologia. Centro Scientifico Editore.

H. G. Vogel- W. H. Vogel: Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. Springer Verlag

Tossicologia:

Tossicologia. III edizione, Galli Corsini Marinovich
Casarett & Doull. Elementi di Tossicologia. Klaassen & Watkins III. Casa Editrice Ambrosiana.

Materiale didattico mostrato durante il corso. Lavori scientifici scaricabili dal sito PUBMED.

METODI DIDATTICI/ORGANIZZAZIONE DELL'INSEGNAMENTO

Lezioni Frontali ed Esercitazioni in aula e in laboratorio (pratico-dimostrative).

Valutazione dell'EC₅₀ e del pA₂.

MODALITÀ DI VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO

Esame Orale; Il voto finale d'esame è espresso in trentesimi da 18/30 a 30/30 e lode e tiene conto:

a) della valutazione dell'elaborato sperimentale; b) della capacità di descrivere la progettazione di uno studio sperimentale pre-clinico atto a dimostrare l'efficacia, il meccanismo d'azione e gli eventuali effetti avversi della molecola oggetto di studio; c) della scelta del metodo statistico per l'analisi dei risultati; d) delle conoscenze acquisite in ambito tossicologico.

L'attribuzione del voto avviene secondo i criteri riportati in Tabella:

Voto	Descrittori
< 18 insufficiente	Conoscenze frammentarie e superficiali dei contenuti, errori nell'applicare i concetti ed esposizione carente
18 - 20	Conoscenze dei contenuti sufficienti ma generali, esposizione semplice, incertezze nell'applicazione di concetti teorici
21 - 23	Conoscenze dei contenuti appropriate ma non approfondite, capacità di applicare i concetti teorici, capacità di presentare i contenuti in modo semplice
24 - 25	Conoscenze dei contenuti appropriate ed ampie, discreta capacità di applicazione delle conoscenze, capacità di presentare i contenuti in modo articolato.
26 - 27	Conoscenze dei contenuti precise e complete, buona capacità di applicare le conoscenze, capacità di analisi, esposizione chiara e corretta
28 - 29	Conoscenze dei contenuti ampie, complete ed approfondite, buona applicazione dei contenuti, buona capacità di analisi e di sintesi, esposizione sicura e corretta,
30 30 e lode	Conoscenze dei contenuti molto ampie, complete ed approfondite, capacità ben consolidata di applicare i contenuti, ottima capacità di analisi, di sintesi e di collegamenti interdisciplinari, padronanza di esposizione