

Lo studio della biocinetica in vitro in sistemi epatici umani in seguito ad esposizione ripetuta: il caso di tre farmaci modello

G. Pomponio^{1,2}, E. Di Consiglio¹, C. Parmentier³, J. Broeders⁴, B. Blaauboer⁴, F. Bois⁵, L. Romanelli², E. Testai¹, L. Richert^{3,6}

¹Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

²Sapienza Università di Roma, Italia

³KaLy-Cell, Strasburgo, Francia

⁴Università di Utrecht, Olanda

⁵Institut National de l'Environnement Industriel des Risques, Francia

⁶Università di Franche-Comté, Francia

Il profilo biocinetico di Ibuprofene (IBU), Amiodarone (AMI) e Clorpromazina (CPZ) è stato studiato in epatociti primari umani (PHH) isolati di fresco o in seguito a crioconservazione, trattati per 14 giorni consecutivi a concentrazioni considerate non citotossiche dei diversi composti (rispettivamente 1, 2,5 e 100 µM).

I tre farmaci scelti sono caratterizzati da processi di biotrasformazione, con differenti conseguenze per il loro profilo tossicologico: i) detossificazione da parte del CYP2C9 (IBU); ii) bioattivazione da parte dei CYP3A4 e CYP2C8 (AMI); iii) processi misti da parte dei CYP1A2 e CYP2D6 (CPZ). Sulla base di tali caratteristiche e allo scopo di evidenziare possibili relazioni tra diversi profili biocinetici ed effetti tossici esplicitati, i PHH sono stati caratterizzati e selezionati tenendo conto delle loro differenti capacità metaboliche.

Seguendo l'andamento biocinetico di IBU nei PHH con diverso contenuto in CYP2C9, è stata evidenziata una elevata variabilità inter-individuale, correlata con il differente grado di tossicità. A parità di concentrazione, con esposizione ripetuta, solo nei PHH caratterizzati da una bassa attività di CYP2C9, IBU è risultato citotossico dopo 1-2 giorni di trattamento. Il contenuto intracellulare di IBU dei PHH con attività di CYP2C9 media corrispondeva a 10 e 20 volte quello misurato nei PHH con elevata capacità metabolica, dopo esposizione singola e ripetuta. L'applicazione di un modello matematico previsionale ha permesso di dimostrare che l'andamento del composto all'interno del modello cellulare era in grado di raggiungere uno stato di equilibrio dinamico dopo un giorno di trattamento, in linea con la situazione in vivo.

Relativamente ad AMI in seguito a trattamento ripetuto è stato osservato un accumulo intracellulare sia del composto parentale che del suo metabolita attivo mono-N-desetilamiodarone (MDEA). Nei vari PHH è stata evidenziata una variabilità inter-individuale nei profili biocinetici di AMI e MDEA così come nella capacità di bioaccumulo dei due composti, direttamente correlata con il diverso contributo dei principali CYP coinvolti nel metabolismo (3A4 e 2C8). In tal caso però non è da escludere un coinvolgimento della glucuronidazione, che potrebbe ulteriormente spiegare la variabilità degli effetti riscontrati nei vari PHH. Per AMI e MDEA il modello biocinetico mostrava il raggiungimento di un equilibrio dinamico in circa una settimana, simulando ciò che accade in vivo.

Nel caso di CPZ nei PHH la variabilità osservata nel profilo biocinetico è imputabile ai livelli di CYP2D6 e 1A2. Le differenze tra donatori tra i livelli di esposizione a CPZ non dimostrano essere chiaramente correlate con segnali di deregolazione genica, legati ad alterazioni a livello epatico. Tali risultati confermano che la tossicità di CPZ sia legata ad effetti causati sia dal composto parentale che dai suoi metaboliti, legata all'induzione di stati infiammatori.

Tale studio evidenzia la rilevanza della identificazione del profilo biocinetico durante studi di tossicità epatica con PHH; il modello offre anche il vantaggio di poter selezionare PHH fenotipizzati per verificare ipotesi di meccanismi metabolici e di tossicità.

Lo studio è stato finanziato dal progetto Europeo Predict-IV (FP7-EU- Grant n° 202222).