

# Tossicologia ambientale: i metalli

**essenziali** (Cu, Fe, Mg, Zn, ...), svolgono importanti funzioni biologiche. Può manifestarsi tossicità sia per eccesso che per difetto.

**non-essenziali** (As, Cd, Pb, Hg, ...)

## Sorgenti

### naturali

erosioni

eruzioni vulcaniche

incendi

bioaccumulo nella catena alimentare

### antropogene

combustione di combustibili fossili

estrazione e trattamento di minerali

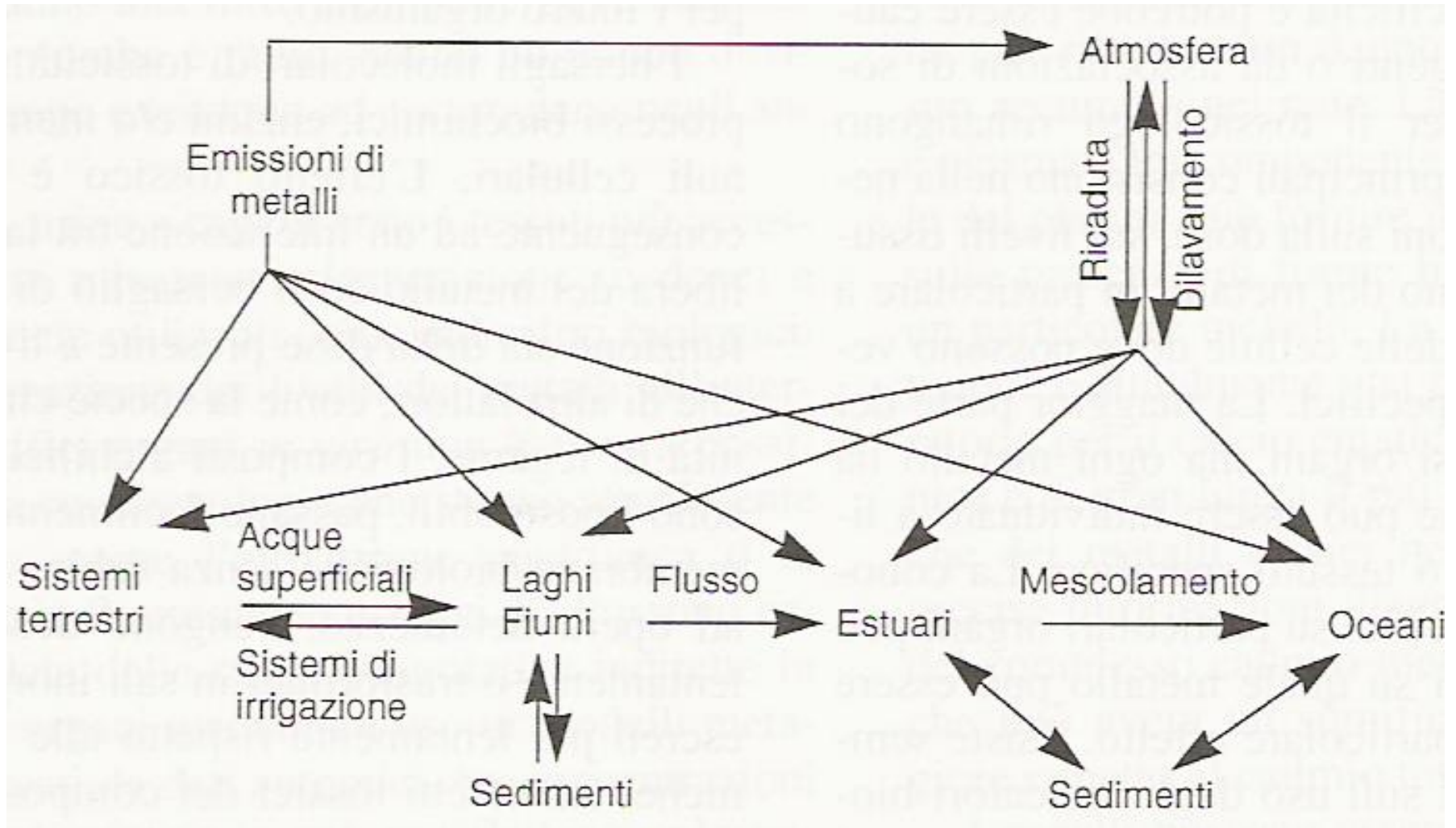
lavorazione industriale di metalli

smaltimento dei rifiuti civili ed industriali

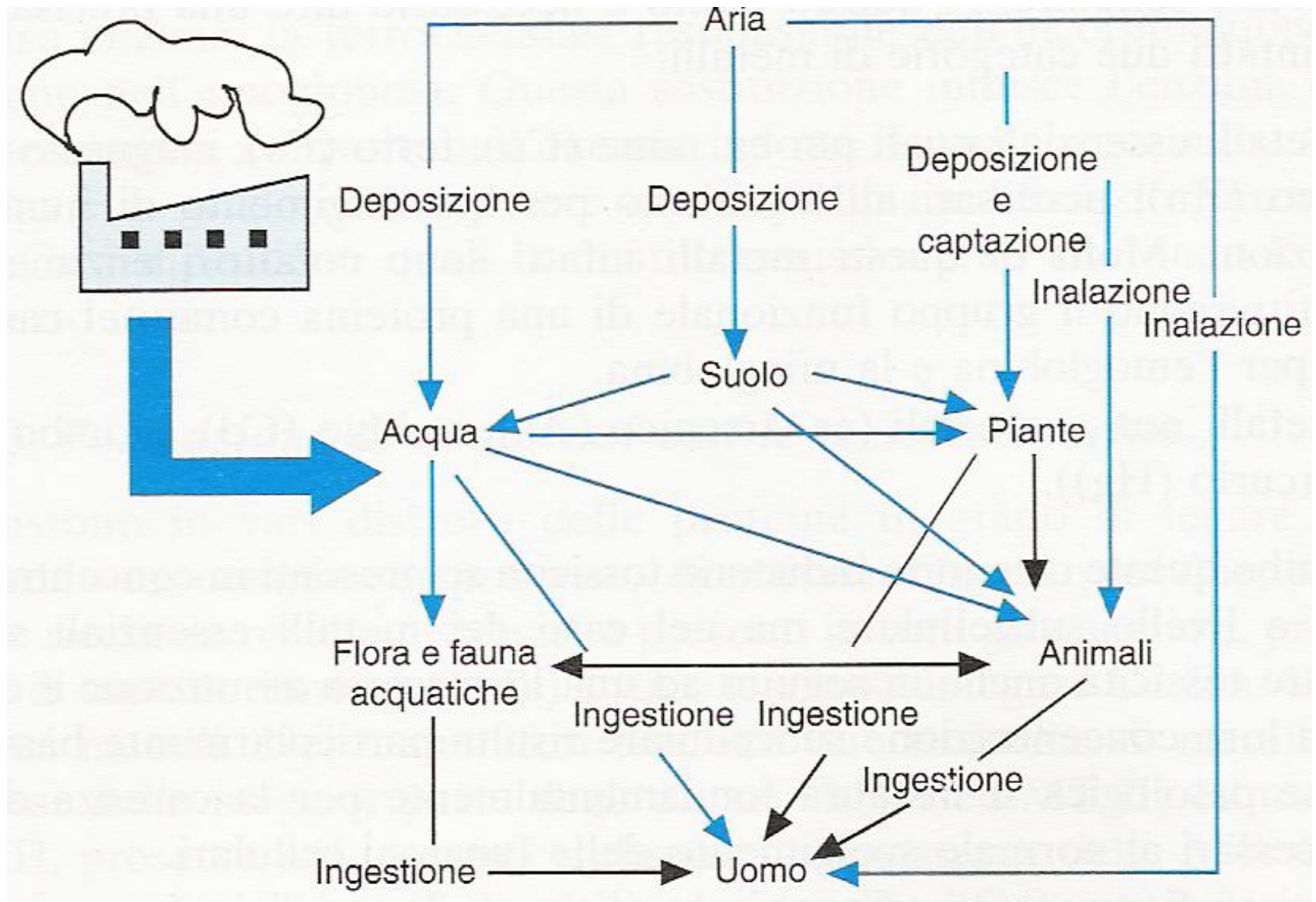
# Produzione mondiale annuale di metalli dai minerali (1980)

Metallo	Produzione annuale (t)
Acciaio grezzo	$716 \times 10^6$
Alluminio	$16 \times 10^6$
Rame	$9,4 \times 10^6$
Zinco	$6,1 \times 10^6$
Piombo	$5,4 \times 10^6$
Cromo	$2,8 \times 10^6$
Nichel	$750 \times 10^3$
Cadmio	$18 \times 10^3$
Argento	$11 \times 10^3$
Mercurio	$6,6 \times 10^3$
Oro	$1,3 \times 10^3$
Metalli del gruppo del platino <sup>b</sup>	$0,2 \times 10^3$

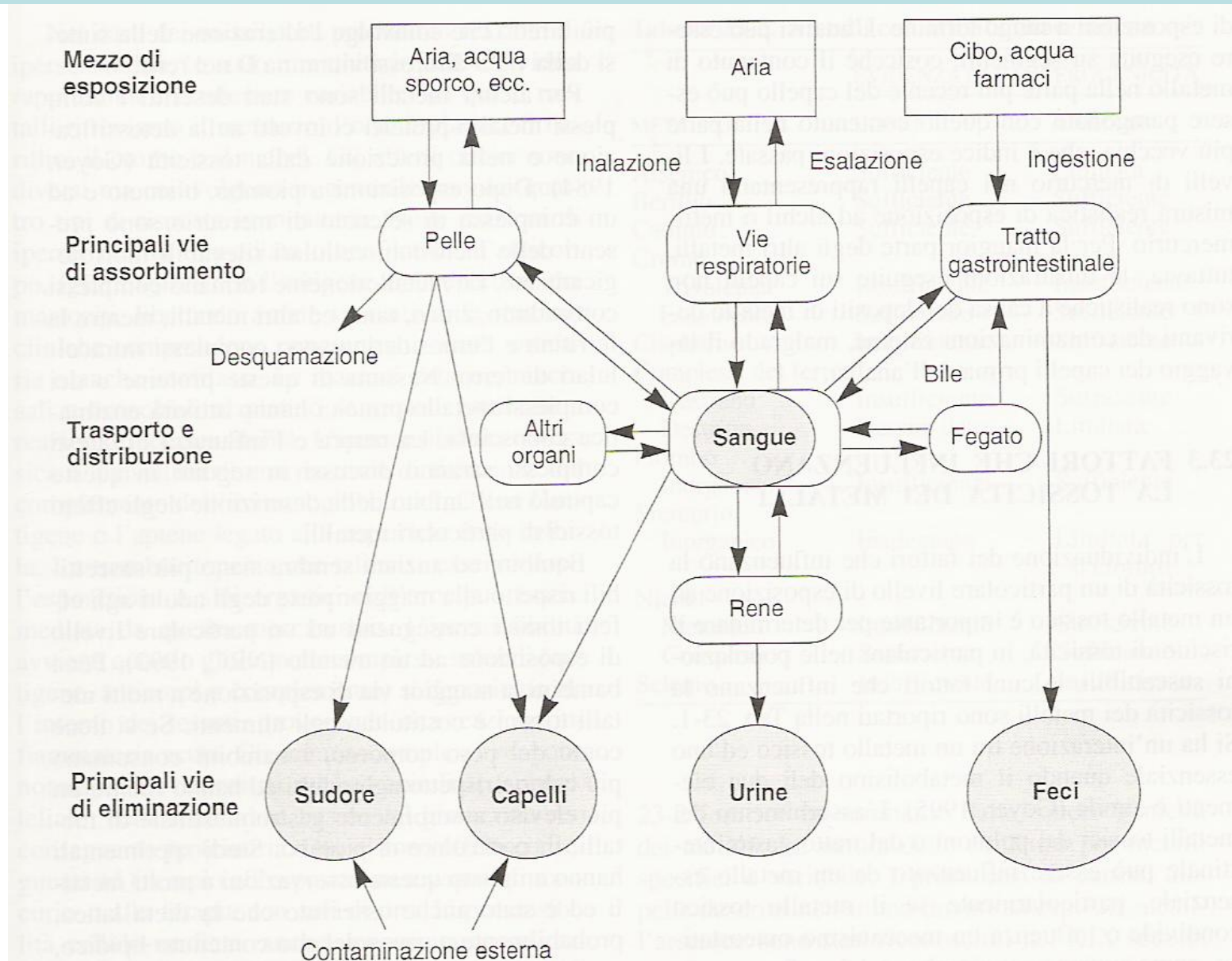
# Trasporto di tracce di elementi nell'ambiente



# Ciclo geologico (in blu) e biologico (in nero) dei metalli



# Metabolismo dopo esposizione ai metalli



# Fattori che influenzano la tossicità dei metalli

## **Forma chimica** (elementare, inorganica, organica)

Le forme organiche sono generalmente più liposolubili (attraversamento BEE → neurotossicità da Hg organico, nefrotossicità da Hg inorganico), ed hanno escrezione più lenta

## **Interazione con metalli essenziali**

Es. Cd e Pb competono con il Ca ed il Fe.  
Interazioni sull'assorbimento e sulla tossicodinamica

## **Formazione di complessi con metallotioneine (MTs)**

Sono proteine a funzione protettiva in grado di legare Cd, Cu, Zn. La loro sintesi è indotta dai metalli stessi

## **Stile di vita**

fumo, alcool, assunzione di fosfati, ...

## **Età**

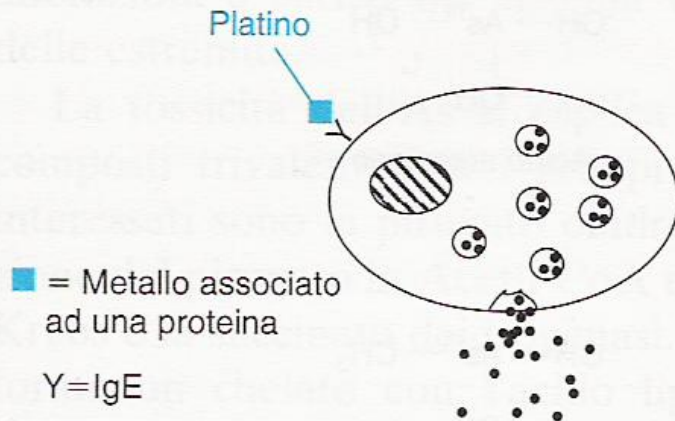
Bambini ed anziani hanno il rischio maggiore (assorbimento, metabolismo, consumo calorico, ...). Teratogenesi da Hg.

## **Predisposizione all'ipersensibilità**

Importante per quei metalli che causano allergie (Hg, Au, Cr, Ni, ...); i metalli legano determinanti antigenici e possono causare tutte e 4 le tipologie di reazioni

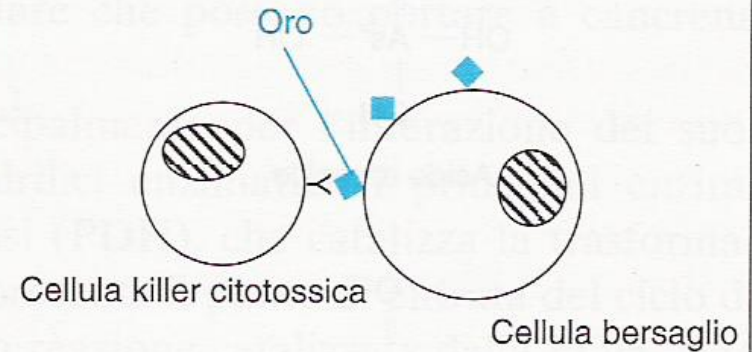
# Reazioni d'ipersensibilità causate dai metalli

## Reazioni di Tipo I: degranolazione dei mastociti

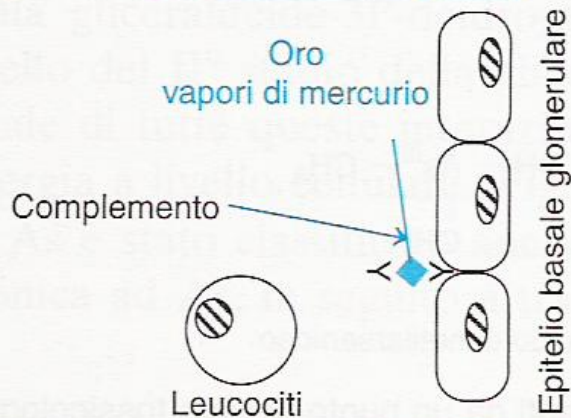


## Reazioni di Tipo II

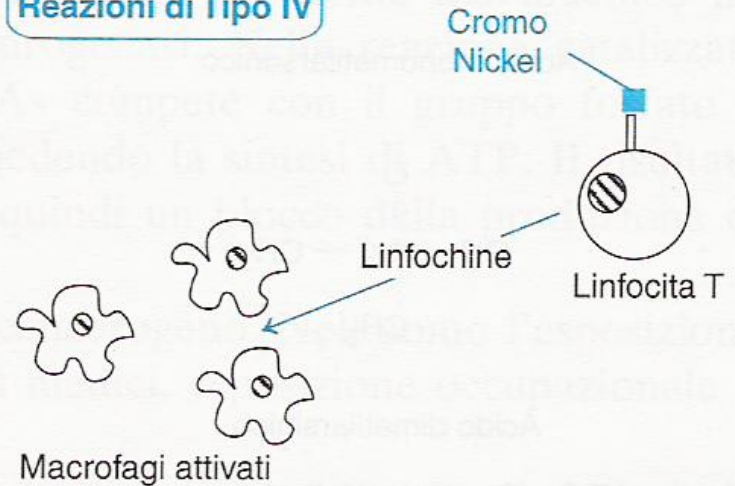
Y=IgG



## Reazioni di Tipo III: formazione di immunocomplessi



## Reazioni di Tipo IV



# Esposizione e tossicità di alcuni metalli

Metallo	Esposizione	Assorbimento medio giornaliero <sup>a</sup>	Tossicità cronica	Organo bersaglio	Osservazioni	Valori limite
Arsenico	Soprattutto alimenti, anche aria	1 mg	Irritazioni dei nervi periferici, disturbi all'emopoiesi, tumori cutanei, per inalazione anche tumori polmonari	Cute, polmoni	Specie tossiche: As(III)	ADI <sup>b</sup> : 0÷2 µg/kg di peso corporeo; acqua potabile (Germania): 0,01 mg/L
Cromo	Soprattutto alimenti, anche aria	5÷100 µg (USA)	Allergie da contatto, per inalazione asma bronchiale e tumori polmonari	Cute, polmoni	Essenziale, specie tossiche: probabilmente Cr(VI)	Acqua potabile (WHO, Germania): 0,05 mg/L
Rame	Alimenti	> 2 mg (raccomandato)	Cirrosi epatica in conseguenza di accumulo di Cu nel morbo di Wilson, malattie colestatiche e probabilmente per lattanti molto esposti	Fegato	Essenziale	Acqua potabile (WHO): 2 mg/L (provvisorio)
Nichel	Alimenti, aria	300÷600 µg	Allergie ed eczemi da contatto, per inalazione cronica di tabacco, irritazione delle cavità secondarie e tumori polmonari	Cute, polmoni	Specie cancerogene non chiare	Acqua potabile (Germania): 0,05 mg/L
Tallio	Alimenti, aria	2 µg	Alterazioni neurologiche, caduta di peli, edemi polmonari e danni al fegato e ai reni	Sistema nervoso	Comportamento metabolico come il potassio	ADI: 0,5 µg/kg di peso corporeo



# Proteine che legano i metalli

Proteina	Massa molare (D)	Presenza	Metallo	Funzione
Calmodulina	14 000	Ubiquitario	Ca	Attivatore di vari enzimi (secondo messaggero)
Ferritina	470 000	Midollo osseo, intestino tenue, fegato	Fe	Deposito
Transferrina	90 000	Plasma, spazio extracellulare	Fe	Trasporto
Ceruloplasmina	132 000	Plasma	Cu	Trasporto (ossidasi)
Metallotioneina	6500	Ubiquitario	Ag, Hg, Cu, Cd, Zn	Deposito, disintossicazione

# Agenti chelanti e intossicazione da metalli

Agente chelante	Metallo
Dimercaprololo (BAL) <sup>a</sup>	As, Hg inorganico, Pb (con EDTA)
EDTA <sup>b</sup>	Pb
Deferossamina	Fe
DMPS <sup>c</sup>	Metil-Hg, Hg inorganico, Pb, Cd, Cu, Ni
<i>D</i> -Penicillamina <sup>d</sup>	Cu, (Pb)

<sup>a</sup> BAL, British Anti-Lewisite; all'origine utilizzato come antidoto contro la lewisite.

<sup>b</sup> Sale calcio-disodico dell'acido etilendiaminotetracetico.

<sup>c</sup> 2,3-Dimercapto-1-propansolfonato (Dimaval®).

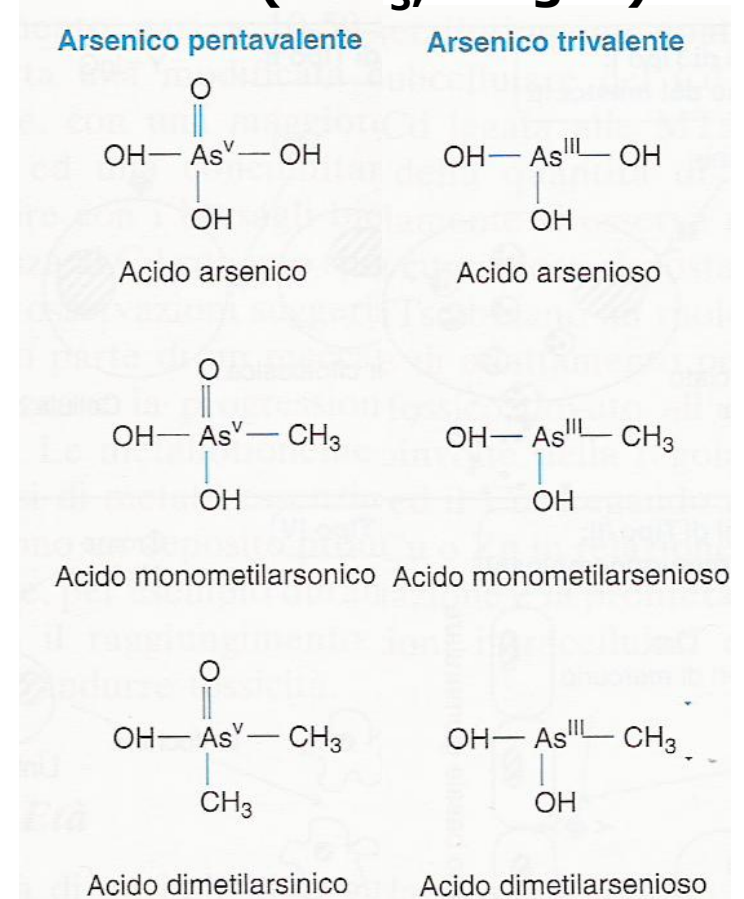
<sup>d</sup>  $\beta,\beta$ -Dimetilcisteina.

# Tossicologia dell'Arsenico

La farmacologia dell'arsenico ha avuto un ruolo rilevante in chemioterapia (studi di Ehrlich)

Esiste in forme elementari, trivalenti o pentavalenti

Tossicità: arsenicali organici <  $\text{As}^{5+}$  <  $\text{As}^{3+}$  < arsina ( $\text{AsH}_3$ , un gas)



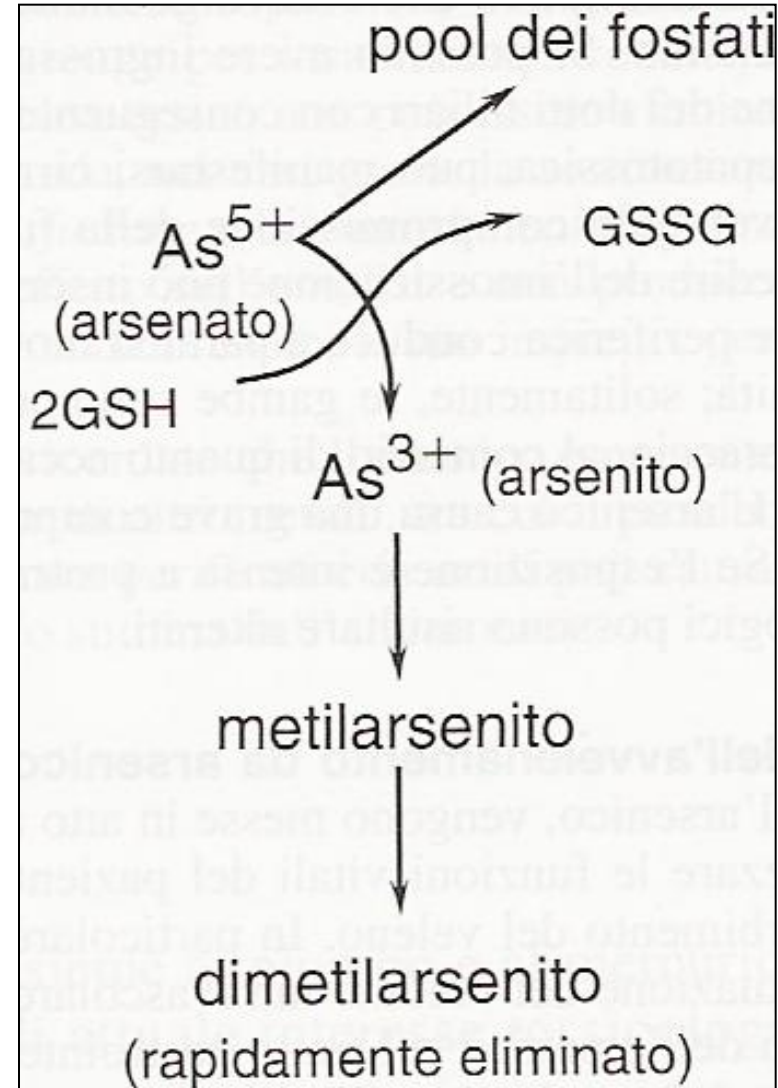
# Tossicocinetica dell'Arsenico

**Assorbito per via inalatoria, cutanea (accumulo), e GI (acqua)**

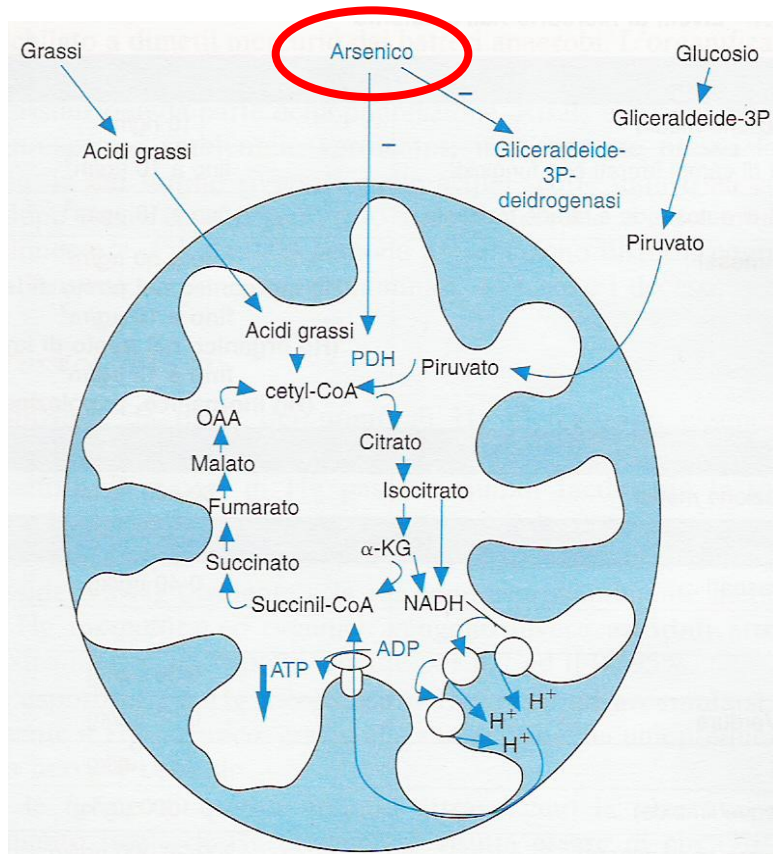
**La forma pentavalente viene ossidata dal GSH a forma trivalente. Questa viene organificata per metilazione**

**Le forme metilate (non completamente inattive), vengono escrete, prevalentemente per via urinaria**

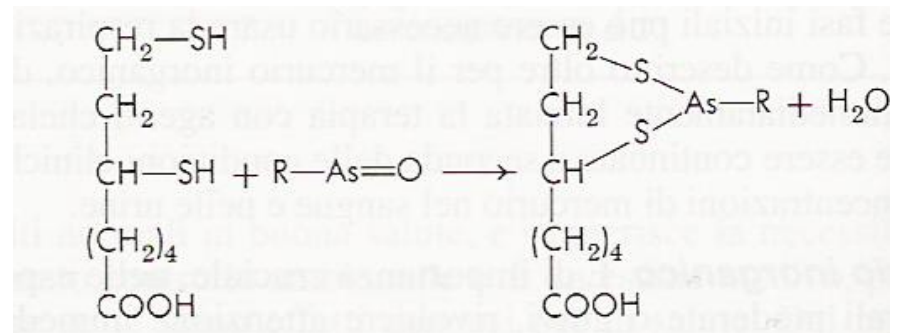
**Emivita 3-5 giorni (breve!)**



# Meccanismi dell'azione tossica dell'arsenico



- Interagisce con gruppi sulfidrilici enzimatici
- Blocca la gliceraldeide-3P-deidrogenasi (pentavalente) e la piruvato-deidrogenasi (trivalente), inibendo il ciclo di Krebs e la produzione di ATP
- Il blocco della G3PDH è probabilmente dovuto alla competizione con il fostafo inorganico
- Il blocco della PDH è invece dovuto alla reazione con due gruppi sulfidrilici presenti sull'acido lipoico



# Meccanismi dell'azione tossica dell'arsenico

- **Le basi chimiche di tale tossicità sono legate alla grande affinità di As(III) nei confronti dello zolfo.**
- *L'arsenico si lega ai gruppi SH dell'acido lipoico presente in enzimi quali la piruvato*
- *deidrogenasi (enzima dello stadio finale della glicolisi, ovvero del processo citosolico che trasforma il glucosio in 2 molecole di piruvato).*
- Questo spiega anche gli effetti letali del gas LEWISITE ( $C_2H_2AsCl_3$ ) usato nella prima guerra mondiale

# Bersagli dell'azione tossica dell'arsenico

## Intossicazione acuta

L'As era facilmente reperibile (erbicida), non ha gusto e presenta un aspetto simile allo zucchero. L'incidenza dell'intox. acuta è nettamente ridotta negli ultimi decenni.

Sintomi prevalentemente GI, con vomito e diarrea profusa, fino allo shock ipovolemico. Terapia: chelanti.

## Intossicazione cronica

I segni più comuni sono:

Astenia, dolore muscolare, pigmentazione cutanea, ipercheratosi ed edema. Colorazione bianca delle unghie (linee di Mee, importanti per stabilire l'inizio dell'esposizione); si osserva neurite periferica, più intensa agli arti superiori (al contrario dell'intox. da Pb). A livello vascolare, si osserva una malattia vascolare periferica che può portare a gangrena (malattia del piede nero).



# Tossicologia del Mercurio

Anche composti mercuriali hanno avuto in passato un ruolo terapeutico come diuretici, lassativi, e antibatterici

E' necessario distinguere tre forme chimiche:

➤ **Vapori di mercurio** (mercurio elementare, volatile, utilizzato per l'estrazione dell'oro e dell'argento). **E' la maggiore fonte di esposizione, ma la meno tossica.**

➤ **Sali di mercurio**, presenti in forma monovalente e bivalente. **Sono la forma più irritante e acutamente tossica del metallo.** Alterazioni comportamentali → Cappellaio matto ("Mad as a Hatter", dall'esposizione cronica dei cappellai), in *Alice nel paese delle meraviglie*


➤ **mercuriali organici**, in cui il Hg è legato covalentemente ad un atomo di carbonio. Ampiamente utilizzati come fungicidi (intox. Acuta in Iraq nel 1972, con 500 morti x uso di farina contaminata con fungicidi *organomercurici*, usati per trattare il grano destinato alla semina, causò il ricovero in ospedale di 6350 persone (459 morirono).

**Malattia di Minamata, da scarichi industriali nella baia dell'omonima città giapponese.** Nel 1956 rilascio di metilmercurio nelle acque reflue dell'industria chimica Chisso Corporation, che perdurò dal 1932 al 1968. Questo composto chimico altamente tossico si accumulò nei molluschi, nei crostacei e nei pesci della baia di Minamata e del mare di Shiranui, entrando nella catena alimentare e causando così l'avvelenamento da mercurio degli abitanti del luogo. I decessi continuarono per più di 30 anni.



# Tossicodinamica del Mercurio

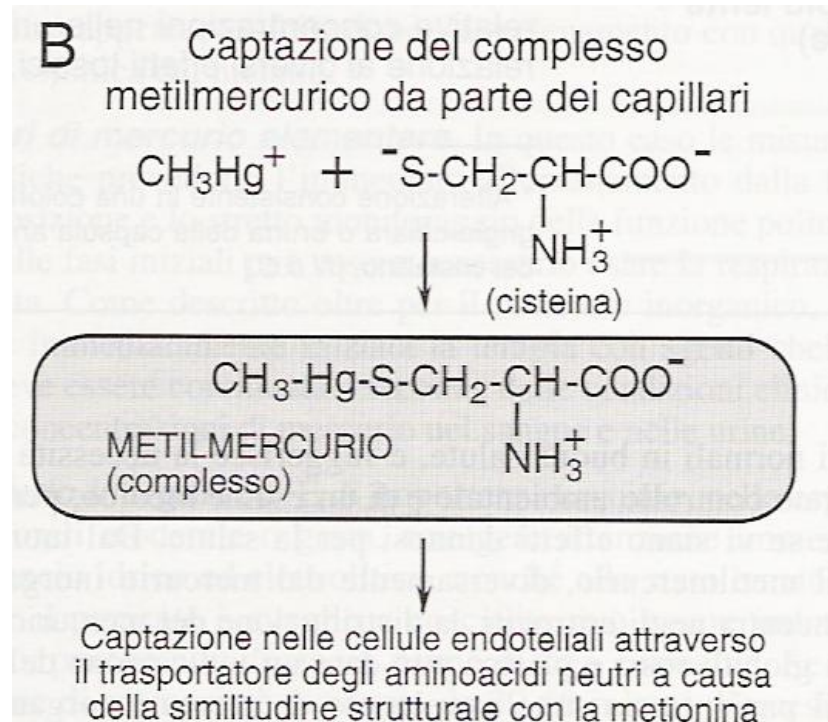
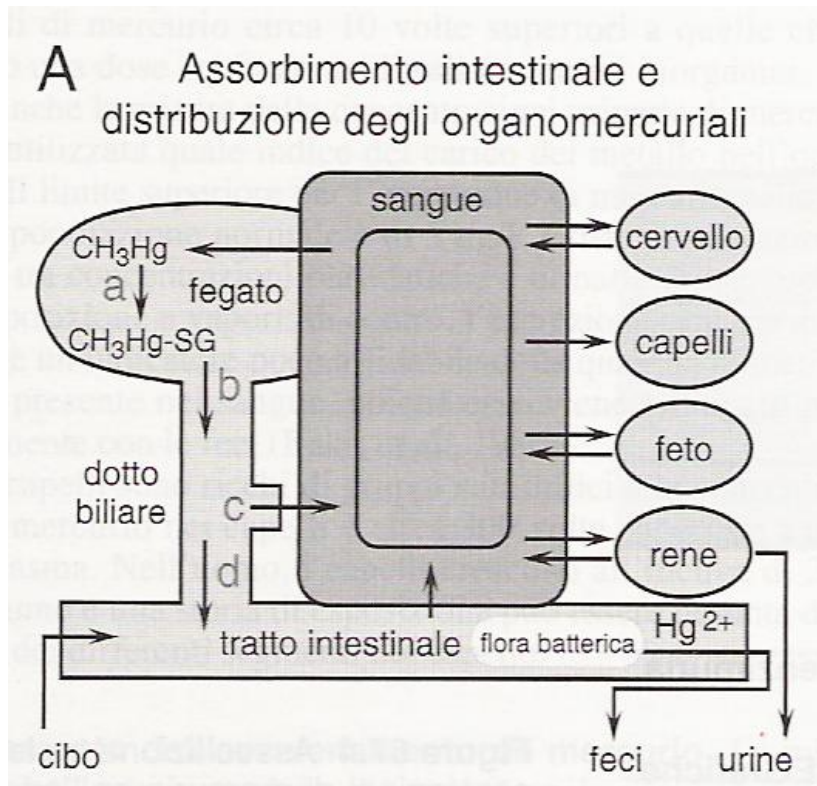
**Interagisce con gruppi sulfidrilici enzimatici, formando legami covalenti ed inattivando enzimi del metabolismo cellulare.**

- Fra gli SH-enzimi inibiti vi è la colina acetiltransferasi  
 sintomi nervosi
- C'è sicuramente anche azione perossidativa (perchè se si integra vitamina E, si nota protezione verso la neurotossicità)
- Hg<sup>++</sup> ha azione denaturante nei confronti delle proteine
- (evidente a carico delle mucose)



# Farmacocinetica del Mercurio: organomercuriali

**Gli organomercuriali, essendo più liposolubili, sono assorbiti meglio (90%). Attraversano la BEE e la placenta.**



**L'escrezione del metilmercurio è prevalentemente biliare, in forma coniugata con il glutatione.**

**L'emivita è 40-100 giorni.**

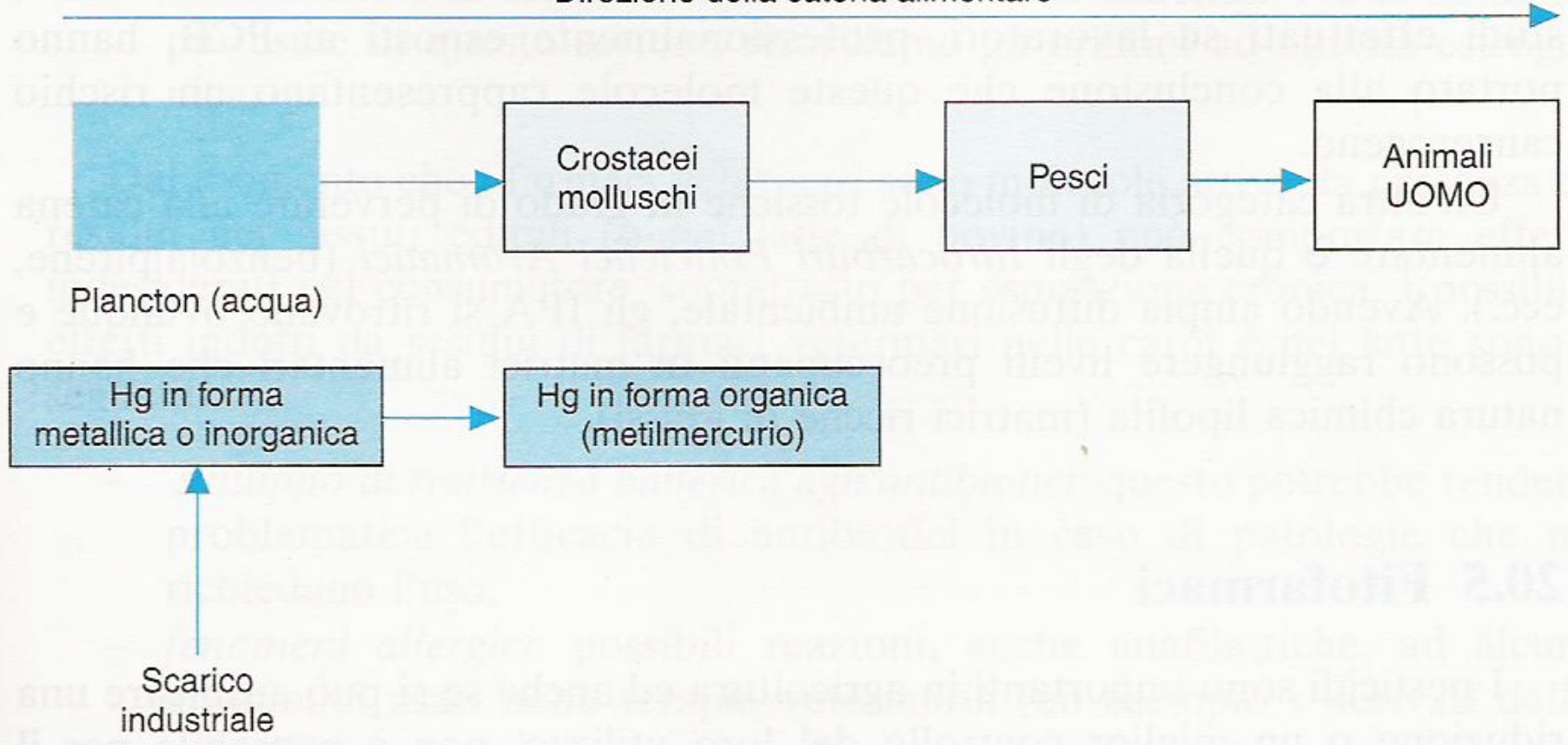
# Intossicazione acuta da Mercurio

- **Il mercurio elementare assorbito acutamente a livello polmonare determina tosse, bronchiti corrosive e polmoniti**
- **Il mercurio inorganico, scarsamente assorbiti, hanno tossicità locale a livello GI. Possibile la tossicità renale da accumulo.**
- **La tossicità più rilevante è quella del metilmercurio. La teratogenesi è a prevalente espressione del SNC (cervelletto).**

CONCENTRAZIONE DI MERCURIO NEL SANGUE $\mu\text{g/ml}$ ( $\mu\text{M}$ )	CASI SINTOMATICI (%)					
	<i>Parestesie</i>	<i>Atassia</i>	<i>Difetti visivi</i>	<i>Disartria</i>	<i>Difetti uditivi</i>	<i>Morte</i>
0.1-0.5 (0.5-2.5)	5	0	0	5	0	0
0.5-1 (2.5-5)	42	11	21	5	5	0
1-2 (5-10)	60	47	53	24	5	0
2-3 (10-15)	79	60	56	25	13	0
3-4 (15-20)	82	100	58	75	36	17
4-5 (20-25)	100	100	83	85	66	28


# Entrata e trasformazioni del Mercurio nella catena alimentare

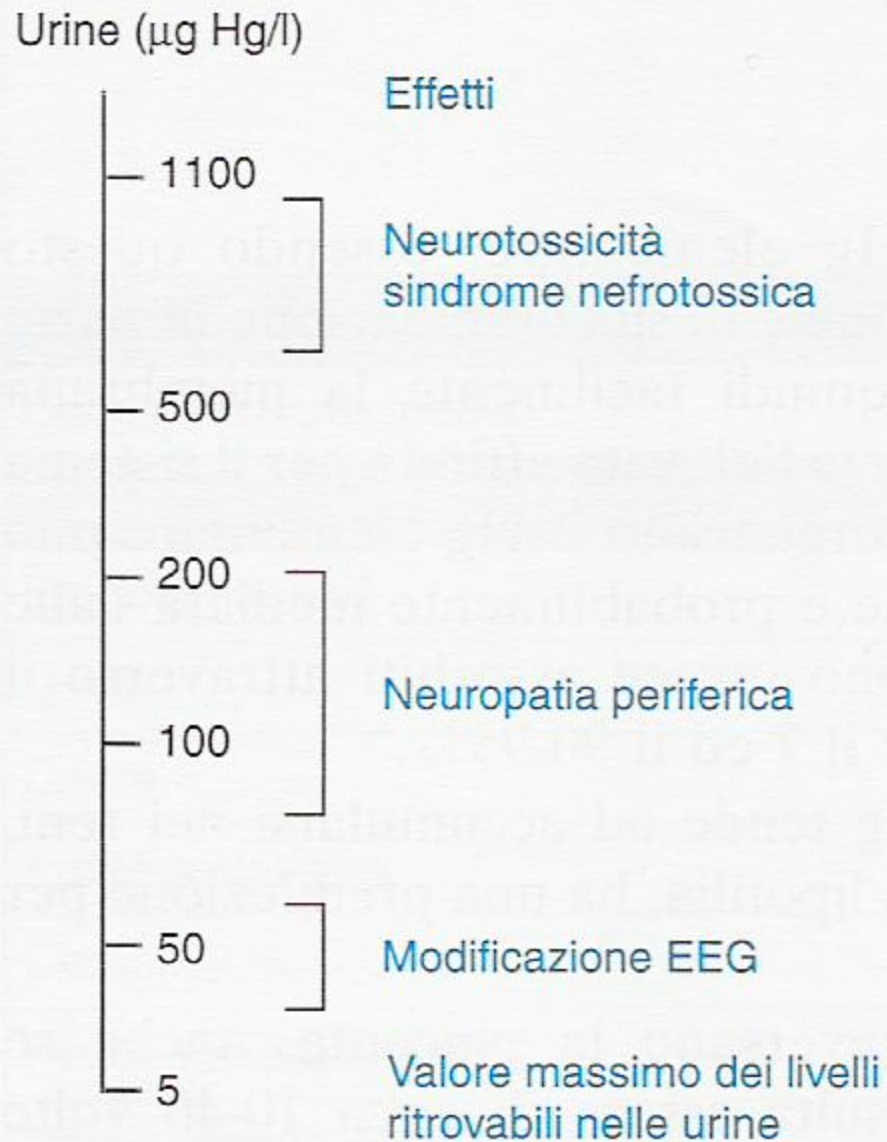
Direzione della catena alimentare



# Tossicodinamica del Mercurio

**Interagisce con gruppi sulfidrilici enzimatici, formando legami covalenti ed inattivando enzimi del metabolismo cellulare.**

- Fra gli SH-enzimi inibiti vi è la colina acetiltransferasi  
 sintomi nervosi
- C'è sicuramente anche azione perossidativa (perchè se si integra vitamina E, si nota protezione verso la neuro tossicità)
- Hg<sup>++</sup> ha azione denaturante nei confronti delle proteine
- (evidente a carico delle mucose)



**Figura 17.5** - Correlazione tra il livello di mercurio nelle urine e gli effetti tossici esercitati.

# Esposizione professionale ed ambientale al Mercurio

IMPIEGHI INDUSTRIALI DEL MERCURIO	% D'ESPOSIZIONE TOTALE AL MERCURIO
Cloroalcali per es., candeggianti	25
Apparecchiature elettriche	20
Vernici	15
Termometri	10
Amalgame dentarie	3
Laboratori di ricerca	2



# Livelli di Mercurio nell'ambiente

Aria	
Concentrazione media	10 ng/ml
Nei pressi di campi irrorati con fungicidi	fino a 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Nei pressi di autostrade e strade trafficate	fino a 18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
<b>Livelli ammessi</b>	<b>fino a 50 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math></b> <b>(Hg inorganico nel posto di lavoro)</b> <b>fino a 10 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math></b> <b>(Hg organico nel posto di lavoro)</b> <b>fino a 15 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math></b> <b>(Hg inorganico, popolazione)</b>
Acqua	
Concentrazione media	50-500 ng/ml
Alimenti	
Prodotti caseari	0-40 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Uova	0-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Carne	0-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Frutta e Verdura	0-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Cereali	0-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Pesce (acque limpide)	0-1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Pesce (acque contaminate)	200-20.000 $\mu\text{g}/\text{kg}$
<b>Livelli giornalieri ammessi per un adulto di mercurio organico</b>	<b>0-300 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math></b>

# Stima della ritenzione totale giornaliera di Mercurio in soggetti non esposti professionalmente

STIMA DELLA RITENZIONE MEDIA GIORNALIERA DI COMPOSTI CONTENENTI MERCURIO  
 $\mu\text{g}$  mercurio al giorno

ESPOSIZIONE	<i>Vapori di mercurio</i>	<i>Sali inorganici di mercurio</i>	<i>Metilmercurio</i>
Aria	0.024	0.001	0.0064
Cibo			
Pesce	0.0	0.04	2.3
Altro	0.0	0.25	0.0
Acqua potabile	0.0	0.0035	0.0
Amalgame dentarie	3-17	0.0	0.0
Totale	3-17	0.3	2.31

# Concentrazioni di mercurio

Aria ( $\mu\text{g Hg}/\text{m}^3$ )

Urina ( $\mu\text{g Hg}/\text{litro}$ )

**ORGANO BERSAGLIO**

**EFFETTI**

polmone

1100

effetti acuti: polmonite

sistema nervoso

cavità orale

reni

cristallino

500

eretismo; tremori accentuati  
gengivite  
sindrome nefrotica  
mercurialentis\*

200

neuropatia periferica

100

sistema nervoso

e reni

diminuzione degli indici  
di intelligenza verbale

enzimuria

50

variazioni EEGrafiche  
(risposte più lente  
e attenuate)

tremore

25

5

limite superiore normale  
dei livelli urinari

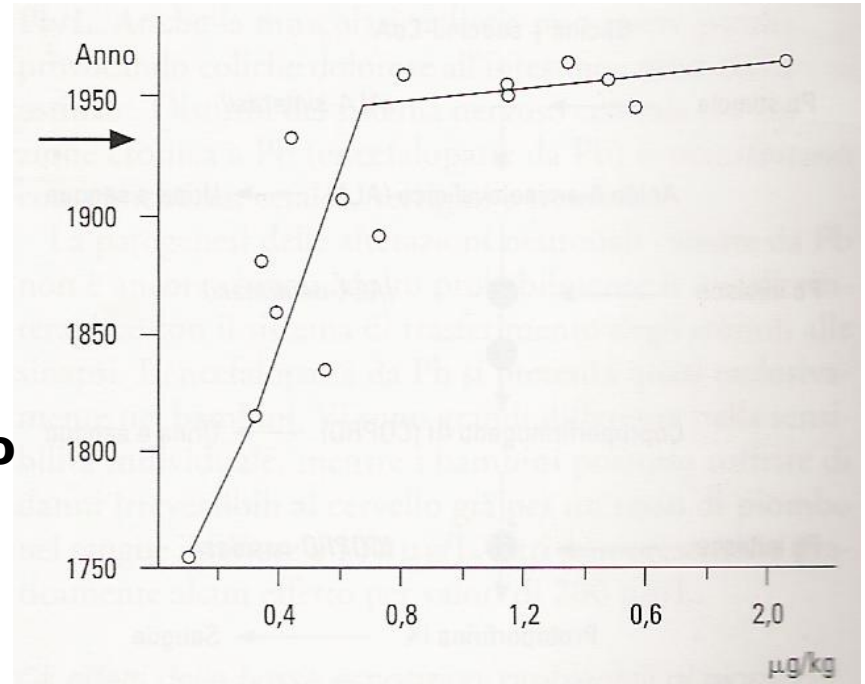
# Tossicologia del Piombo

**Il Pb trova principalmente impiego nella produzione di batterie ed accumulatori (50%), tubi e cavi (16%), vernici (14%), e come additivo della benzina (oggi sostituito dal Manganese).**

**Il Pb atmosferico si deposita sugli strati superficiali, dove viene fissato in alcuni alimenti**

## Contenuto tipico di Pb negli alimenti

Contenuto di Pb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ di peso netto)	Alimento
620 <sup>a</sup>	Verdura a foglia larga
$\leq 300$	Tuberi, fegato bovino, fragole e frutti di bosco
$\leq 150$	Pesce d'acqua dolce, ortaggi, germogli, carne, uova, patate
$\leq 50$	Latte, grano, birra
$\leq 10$	Acqua



**Livelli di Pb in Groenlandia. Si noti l'aumento intorno al 1930, correlato all'introduzione del metallo nei combustibili**

# Tossicocinetica del Piombo

**Il Pb è presente sia in forma inorganica che organica (Pb tetraetile, tetrametile).**

**L'assorbimento è possibile sia per via aereosolica, che GI (adulto: 8-15%; bambino: fino al 50%). Possibile un circolo entero-epatico.**

**Più del 95% del Pb circolante è fissato dagli eritrociti. **Nei tessuti, il Pb si trova a livello dentario ed osseo (dove si deposita come fosfato di Pb insolubile e che ha un'emivita di 10-20 anni! Ma legato non fa danni)** e di tessuti molli quali il SNC (ippocampo, cervelletto e corteccia cerebrale). **L'emivita del Pb nei tessuti molli è di circa 20 giorni.****

**Il contenuto osseo può eguagliare quello del sangue.**

**Il Pb attraversa bene la placenta.**

**L'escrezione è renale e fecale.**

# Intossicazione da Piombo

La tossicità del Pb si esplica a livello:

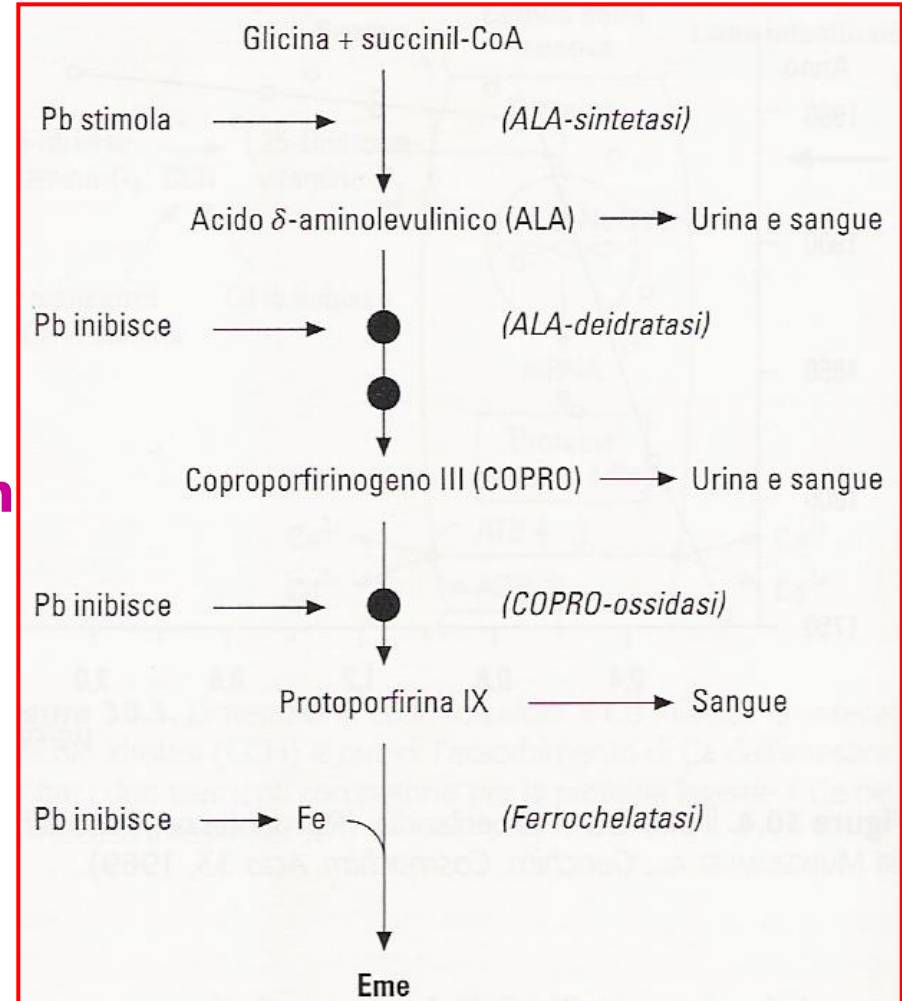
**Del sangue** → anemia microcitica ipocromica, più frequente nei bambini e simile alla carenza di Fe

**Del SNC** → encefalopatia saturnina (acuta), con vertigini, atassia, cefalea, irrequietezza ed irritabilità. **Cronicamente, è dimostrato un rallentamento dello sviluppo neurocognitivo, con ritardo mentale.**

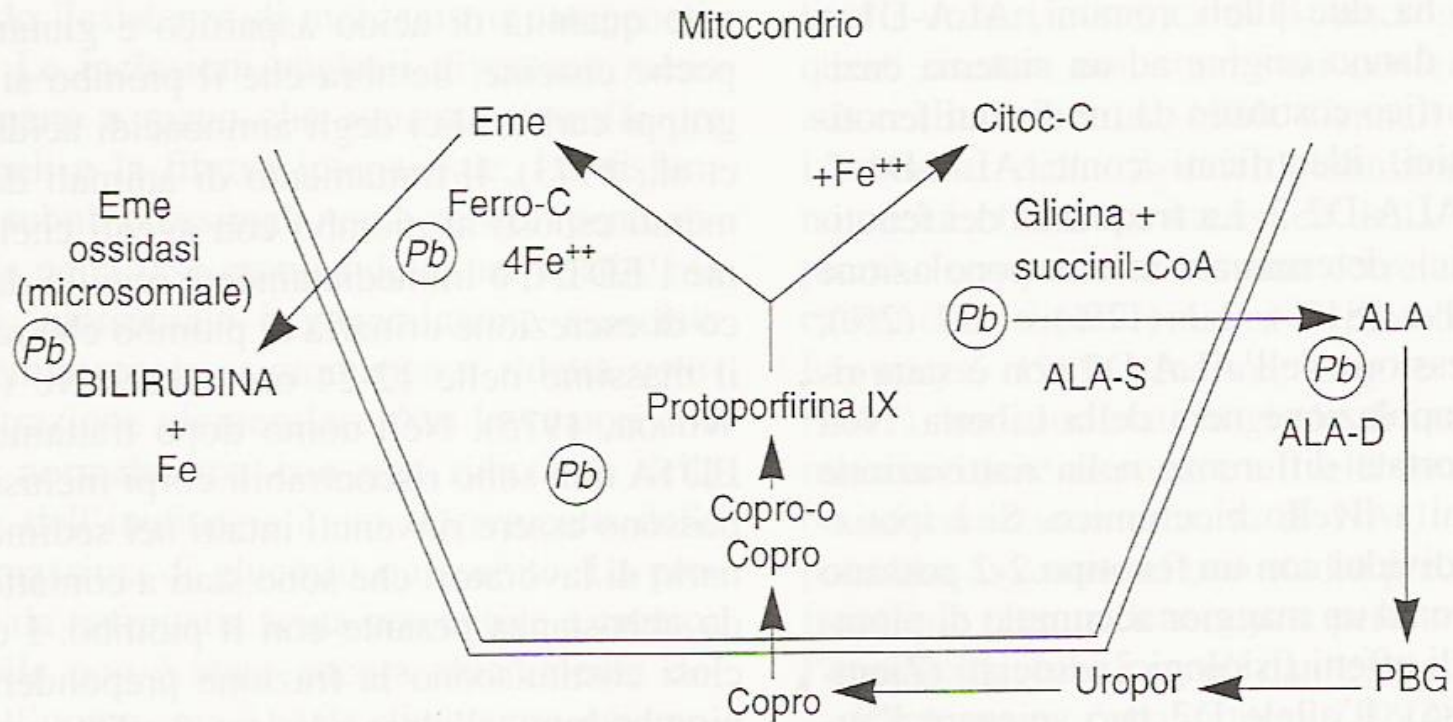
**Dell'apparato GI** → colica saturnina

**Neuromuscolare** → paralisi saturnina (≠ dall'As)

## Blocco della sintesi dell'eme da Pb



La fonte primaria di emissioni di Pb nell'ambiente ( 273000 ton nel 1980, solo negli USA) deriva dalla combustione della benzina che determina polveri di ossido finemente disperse le quali depositandosi al suolo entrano nel ciclo alimentare mediante assorbimento attraverso le radici delle piante.



**Figura 23-4.** Rappresentazione schematica della sintesi dell'eme che evidenzia i siti dove il piombo ha un effetto

CoA, coenzima A; ALA-S, acido aminolevulinico sintetasi; ALA, acido delta-aminolevulinico; ALA-D acido amino-levulinico deidratasi; PGB, porfobilinogeno; Uropor, uroporfirinogeno; Copro, coproporfirinogeno; Copro-O, coproporfirinogeno ossidasi; Ferro-C, Ferrochelatasi; Citoc-C, citocromo C; Pb, siti per gli effetti del piombo.

# Tossicologia del Cromo

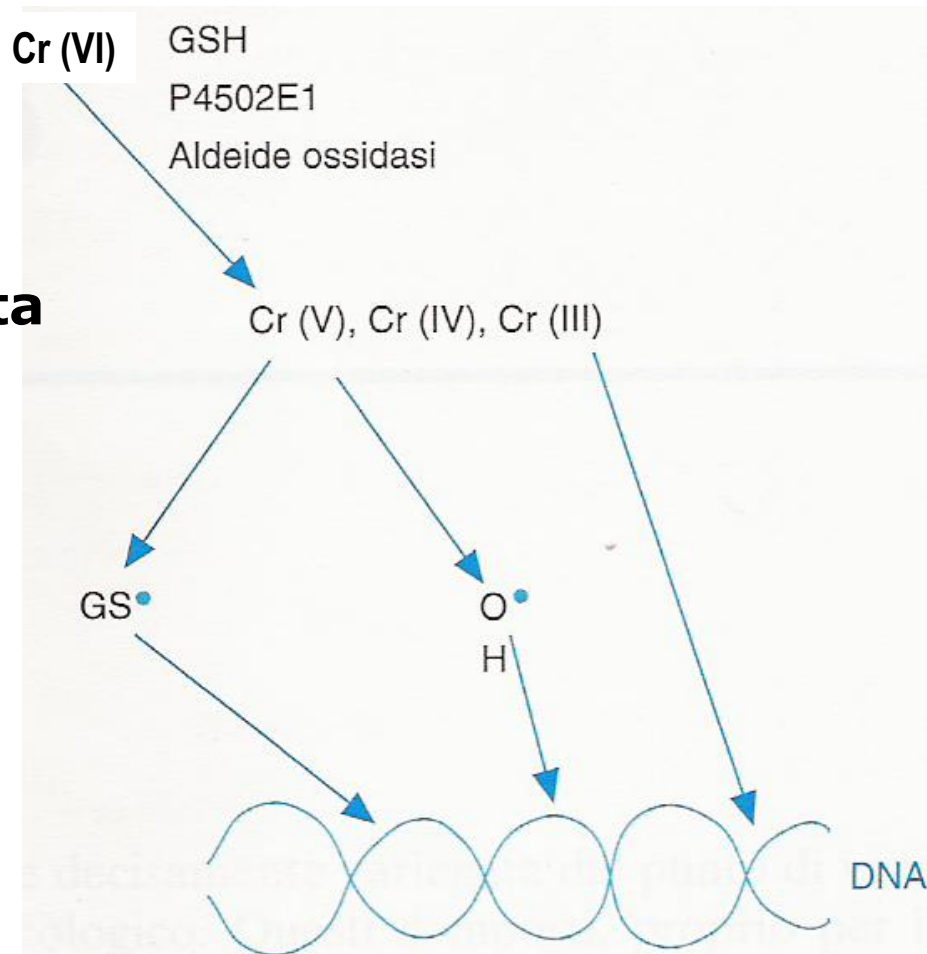
**Il Cr si trova in maggiori quantità in forma esavalente o trivalente.**

**La forma esavalente, più liposolubile, attraversa facilmente le membrane e viene intracellularmente ridotta a trivalente.**

**La tossicità del Cr è probabilmente dovuta ad intermedi reattivi generati nel processo di riduzione.**

**La tossicità è renale (necrosi tubulare acuta), dermica e mucosa.**

**Possibile cancerogenesi polmonare.**





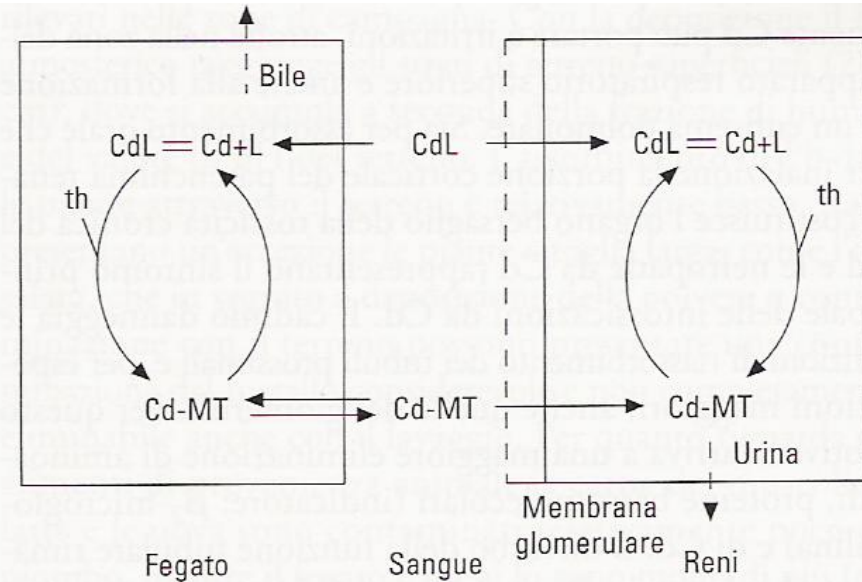
# Tossicologia del Cadmio

**Il Cd trova applicazioni industriali (elettrolisi, produzioni plastiche, vernici).**

**La sua pericolosità deriva dal fatto che è scarsamente (<5%) riciclato**

## Contenuto di Cd in alcuni alimenti

Contenuto di Cd ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ di peso netto)	Alimento
$\geq 200$	Alcuni funghi, prodotti del cacao, molluschi, frutti di mare (fino a $10\,000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ )
$\leq 200$	Fegato e reni (fino a $1000\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ) di maiali e bovini, funghi
$\leq 40$	Cereali, patate, riso, verdure
$\leq 20$	Pane, pomodori, frutta, uova, pesce fresco
$\leq 5$	Muscolo, vino, birra, succhi di frutta
$\leq 1$	Acqua delle condutture, latte, prodotti del latte



**Figura 30.2.** La distribuzione di cadmio nell'organismo. MT, metallo-metalloioneina; th, frazione proteica priva di metallo della metallo-metalloioneina; CdL, Cd complessato; L, ligando legato al Cd, ad esempio glutazione

## Meccanismo tossicità:

- 1. Interazione con gruppi sulfidrilici, carbossilici, e fosforici,**
- 2. Inibizione della sintesi di DNA, RNA e proteine**
- 3. Perossidazione lipidica**

# Tossicocinetica del Cadmio

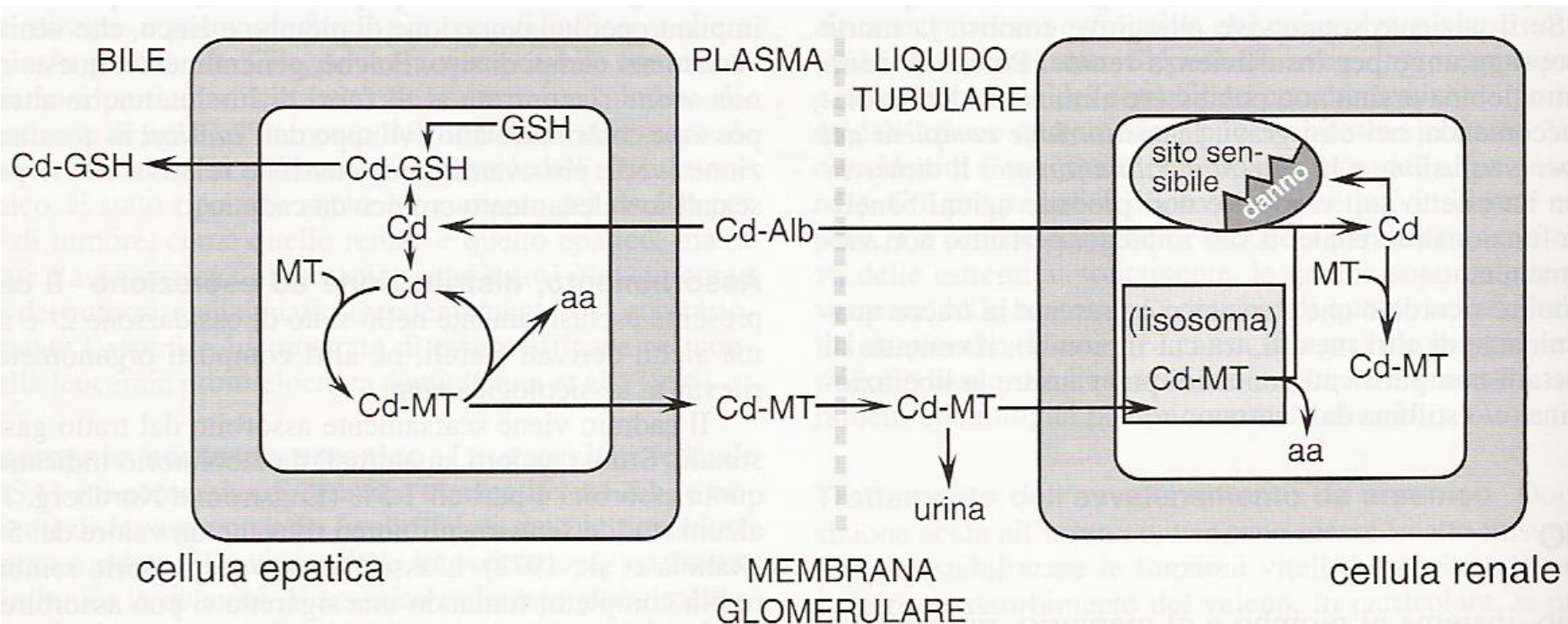
**Il Cd esiste solo in forma divalente ( $\text{Cd}^{2+}$ ) e non forma composti organici.**

**Viene assorbito (5%) per via GI; più completo l'assorbimento respiratorio (fumo!).**

**Trasporto sangue → fegato → rene.**

**Ruolo delle metallotioneine.**

**Emivita: 10-30 anni → accumulo!**



# Intossicazione da Cadmio

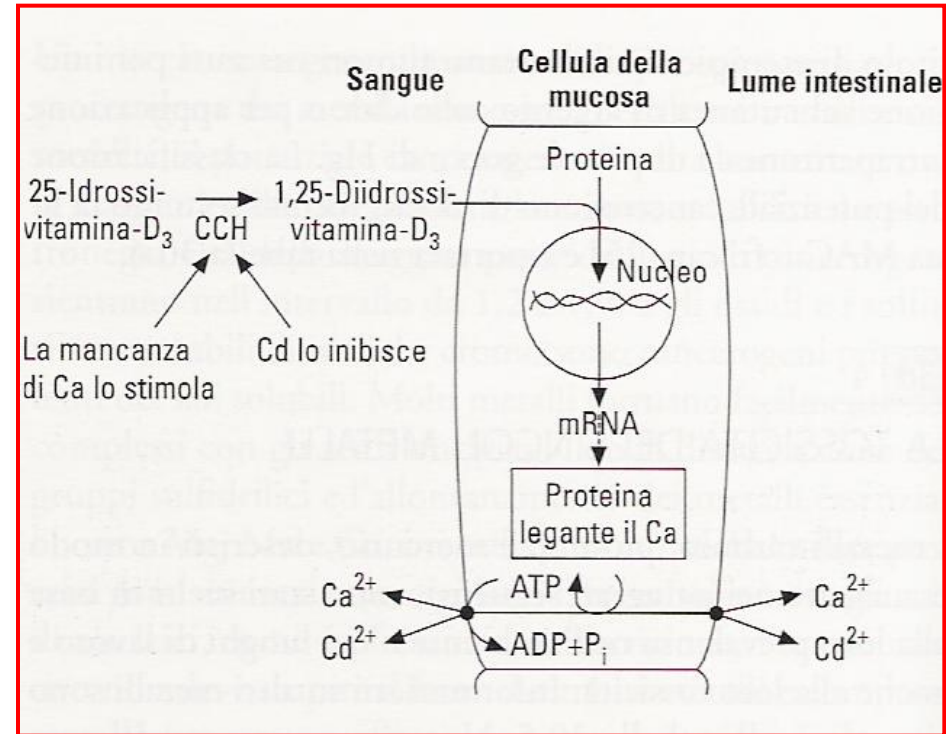
**Acuta** (inalatoria): asma, febbre ed edema polmonare. Per via GI è poco assorbito → fenomeni irritativi locali

**Cronica**: con tossicità polmonare (enfisema), ma soprattutto renale.

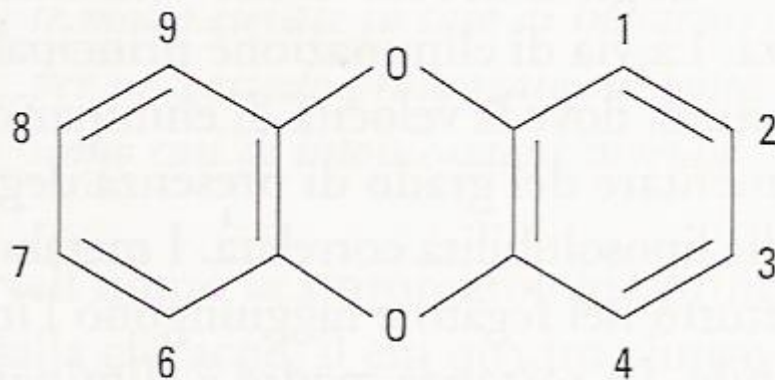
**Ruolo delle metallothioneine nel danno renale.**

**Alterazioni del trasporto di minerali, con notevole perdita di Ca e P. Ciò è dovuto sia alla ridotta sintesi di Vit. D3, che alla competizione diretta con il Ca per l'assorbimento.**

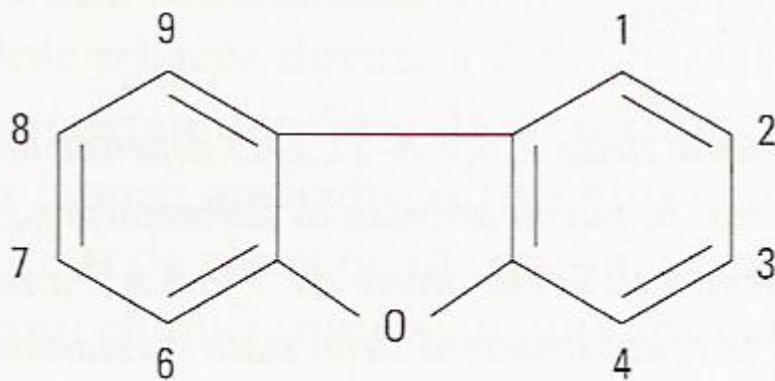
**Cancerogenesi polmonare da Cd.**



# Dibenzodiossine e dibenzofurani



Dibenzo-*p*-diossina



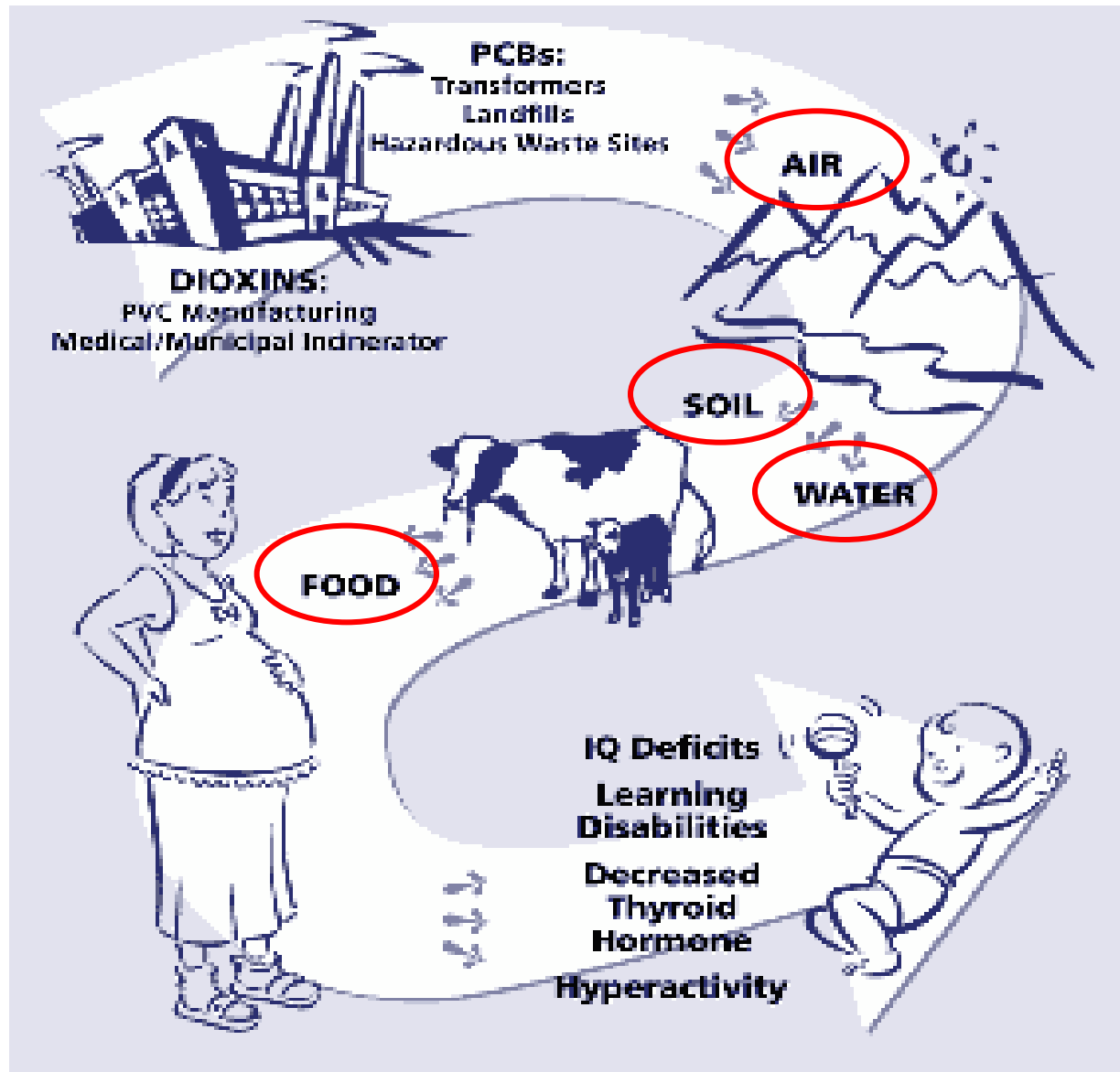
Dibenzofurano

# Fonti di produzione

- **Combustione incompleta**
- **Incenerimenti di rifiuti municipali e ospedalieri**
- **Produzione di ferro e acciaio e altri metalli non ferrosi**
- **Incendi incontrollati (es. incendi di foreste)**
- **Fusione e raffinazione di metalli primari e secondari**
- **Decolorazione della polpa del legno nelle produzione della carta**

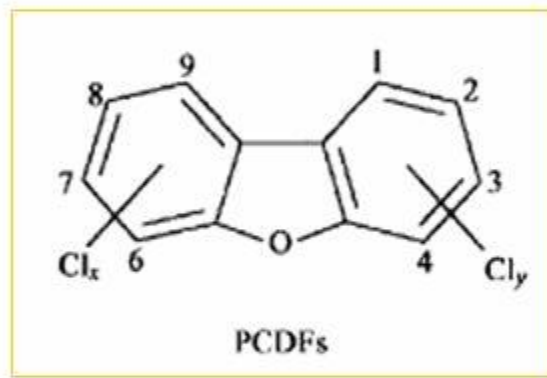
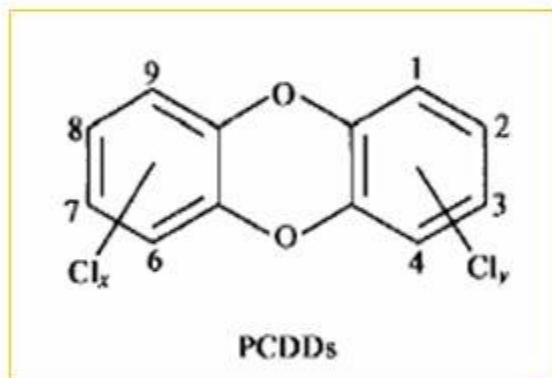


# La catena alimentare: dove avvengono i maggiori rilasci di diossina



# Le diossine

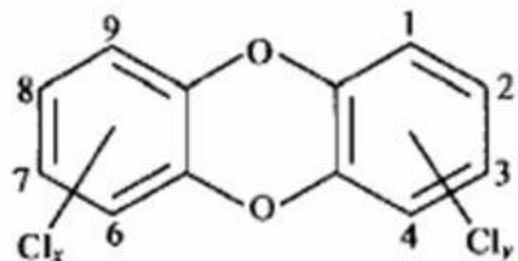
- Il termine **diossina** è oggi comunemente utilizzato per indicare un gruppo di sostanze costituito da **75** congeneri di **policlorodibenzo-p-diossine (PCDD)** e **135** congeneri di **policlorodibenzofurani (PCDF)**
- PCDD/PCDF sono composti **planari, triciclici, antiaromatici** (da non confondere con non-aromatici), contenenti fino ad 8 atomi di cloro



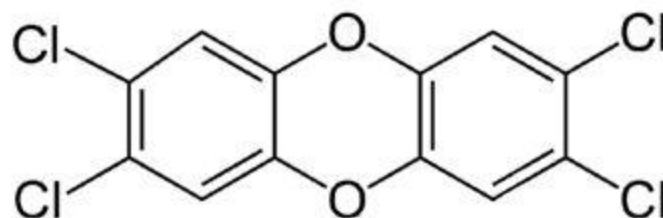
- PCDD/PCDF sono composti **lipofili** con un'**alta temperatura di fusione** ( $>593^{\circ}\text{K}$ ), una **bassa tensione di vapore** ( $<10^{-6}$  Pa) e sono **particolarmente stabili**

- Il **cloro** aumenta la **stabilità** di questi composti ostacolandone la degradazione enzimatica (in particolare in posizione 2,3,7,8 come nella TCDD) ed incrementandone la tossicità poiché favorisce il legame all'**Aryl Hydrocarbon Receptor (Ah)**.

# Le diossine



**PCDD**



**2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina**

*...chiamata anche:*

- ❖ **Diossina**
- ❖ **Diossina di Seveso**
- ❖ **TCDD**
- ❖ **2,3,7,8-TCDD**



# Ingresso nella catena alimentare

Pesce. Risente particolarmente della contaminazione da diossine, in quanto perfettamente in grado di **bio-accumulare** e **bio-magnificare** tali sostanze. Ci sono innumerevoli casi in letteratura che riportano della presenza di diossine in prodotti ittici.

I risultati di un recente studio (2007) condotto da un gruppo di ricercatori di Marghera sul sangue dei veneziani mostrano che i consumatori di pesce e molluschi di laguna risultano contaminati in modo maggiore rispetto ai lavoratori della chimica.

La via principale di contaminazione è sempre la **deposizione atmosferica** anche se, nel caso dei prodotti ittici, c'è da considerare anche il contributo delle **acque reflue** degli impianti (a ridosso del mare).



**Il profilo dei congeneri** è indicativo della sorgente di diossine e permette molto spesso di identificarla (Alcock et al., 2002).

# Concentrazione delle diossine negli alimenti destinati all'uomo

- **Latte materno:** la concentrazione media tra il 1995-99 era tra 8-16 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso, mentre prima del 1995 variava tra 10 e 34 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso.
- **Pesce e prodotti ittici:** la concentrazione media è di 10 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso per DLCs
- **Latte e prodotti derivati:** la concentrazione media è compresa tra 0.3-2.1 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso per DLCs
- **Carne e prodotti derivati:** per manzo, vitello e pollo le concentrazioni di DLCs sono simili ovvero tra 0.5-0.7 pg I-TEQ g<sup>-1</sup>, nel maiale invece intorno a 0.3 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso.
- **Uova:** le concentrazioni sono comprese tra 0.5-2.7 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso con una media intorno a 1 pg I-TEQ g<sup>-1</sup> grasso (SCF, 2000)
- **Frutta e vegetali:** non ci sono dati recenti sulla concentrazione di diossina in questi alimenti

# Meccanismo d'azione della TCDD

- L'analisi dei meccanismi molecolari ha permesso l'identificazione a livello del citosol del fegato e di altri tessuti, di un recettore ad alta affinità per la 2, 3, 7, 8-TCDD. **Questo recettore, denominato Ah è un fattore di trascrizione, e deve essere attivato per poter esplicare la sua azione.**
- Nella sua forma inattiva il recettore Ah è localizzato a livello citosolico e fa parte di un complesso solubile accoppiato con due heat shock proteins 90 (Hsp90) che fungono da trasportatori, una proteina XAP2 ed una proteina scoperta recentemente (23kDa). Hsp90 impedisce il legame del recettore al DNA, finché non è presente alcun complesso recettore-legante.
- Quando Ah si lega con la diossina si ha un cambiamento conformazionale del recettore che promuove la traslocazione del complesso recettore-attivato dal citoplasma al nucleo.
- Quando è nel nucleo il complesso ligando-Ah si libera per legarsi ad una Ah related nuclear translocator " proteina trasportatrice nucleare del recettore Ah" o ARNT. Il complesso Ah-ligando-ARNT interagisce a livello di una regione specifica del DNA denominata dioxin-responsive element (DRE) **che contiene i geni che codificano per diversi enzimi biotrasformativi, tra cui il citocromo P4501A1.** La distribuzione di DRE determina infine quali geni possono essere influenzati nelle loro espressione da 2,3,7,8-TCDD

# Effetti sulla salute: Possibili meccanismi biochimici

## *Interazione tra le diossine ed il recettore Ah*

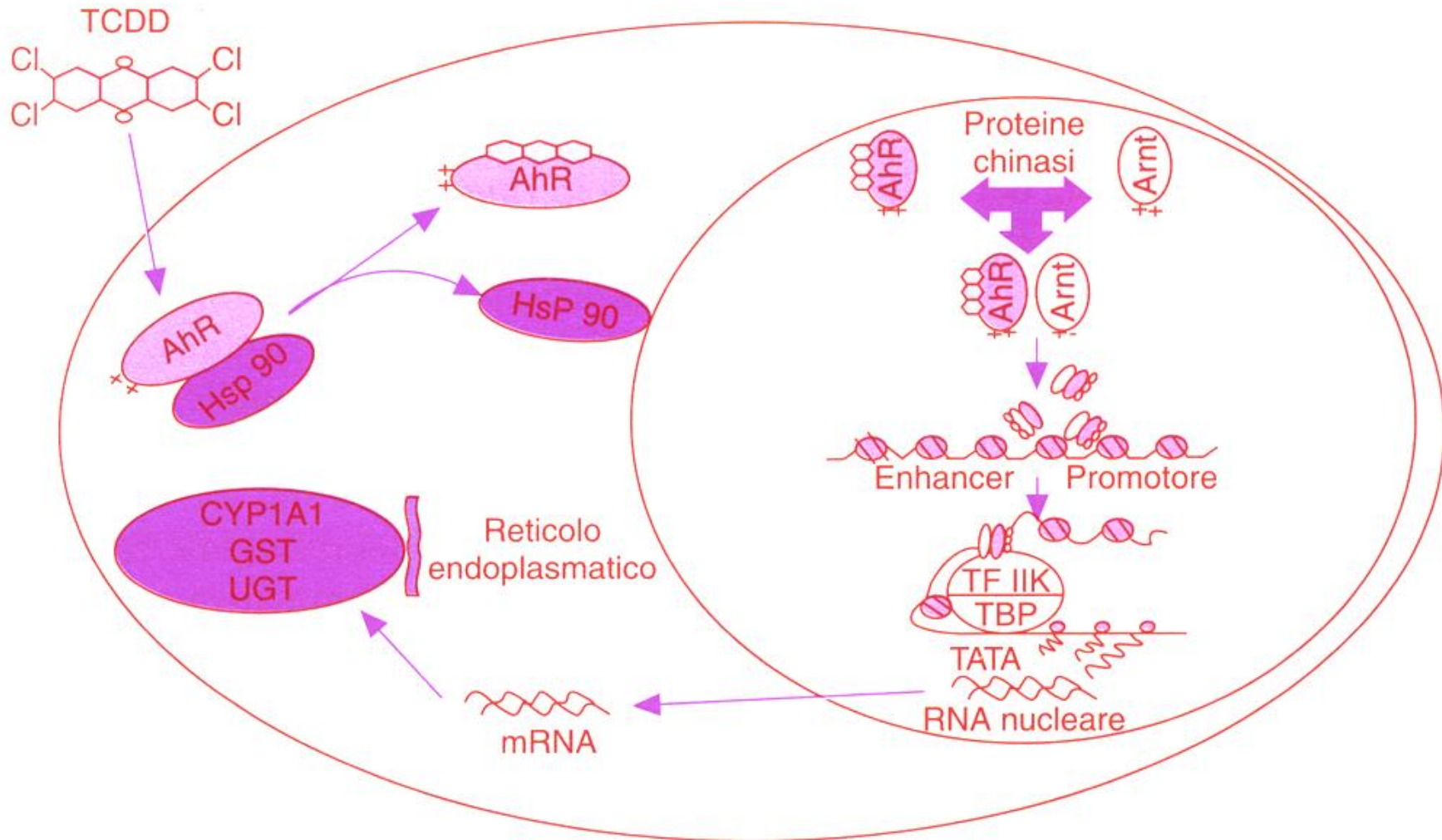
(Hankinson 1995; Okey et al., 1994; Poellinger 1995)

Il **legame tra il PCDD/F** ed una proteina citoplasmatica, il **recettore Ah** (aryl hydrocarbon), rappresenta il **primo stadio** del meccanismo biochimico, ancora non completamente descritto, che spiega gli effetti tossici delle diossine.

Tale legame ha effetti importanti sulla regolazione dell'espressione genica ed è costituito dalle **seguenti fasi**:

- 1) **Legame** fra diossina e recettore Ah;
- 2) **Traslocazione** nel nucleo cellulare e formazione di un eterodimero con la proteina Arnt (Ah receptor nuclear translocator protein);
- 3) **Legame** fra l'eterodimero ed il **DNA**;
- 4) **Attivazione** dell'attività trascrizionale per alcuni geni (meccanismo simile ad alcuni ormoni steroidei)

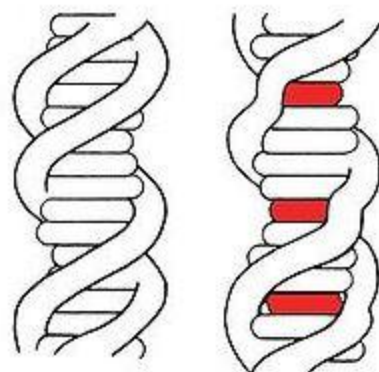
# Induzione di sistemi metabolici da parte della 2,3,7,8-tetracloro-p-dibenzotossina (TCDD)



# Effetti sulla salute: Possibili meccanismi biochimici

## *Possibili conseguenze del legame con il recettore Ah*

- Un gene che sicuramente viene trascritto in seguito a tale meccanismo è quello codificante per l'**enzima citocromo P4501A1**. Ciò è stata dimostrata essere la causa di **numerose alterazioni metaboliche**.
- Un altro effetto del legame con il recettore Ah ampiamente documentato è l'**azione anti-estrogenica** dovuta all'induzione del metabolismo degli estrogeni. Per questo motivo le diossine sono state etichettate anche come **endocrine disruptors**.
- Infine tale legame è probabile che sia coinvolto nei **meccanismi carcinogenici** causati dalle diossine. Ad esempio il meccanismo secondo il quale le diossine si comportino come **agenti intercalanti** del DNA (v. bromuro di etidio).



# Effetti tossici delle diossine (I)

- La tossicità equivalente (TE) è utilizzata per valutare l'intensità dell'effetto della miscela totale
- Le intensità relative dell'effetto tossico dei singoli congeneri sono riferite al 2,3,7,8-TCDD, composto ad azione maggiore, ed espressi in base ad un fattore di tossicità equivalente (TEF).
- La TE totale di una miscela è data da **[concentrazione] x TEF**
- **l'emivita della 2,3,7,8-TCDD** dipende formalmente dal peso corporeo difatti, nei piccoli animali di laboratorio varia da 10 fino a 40 giorni; mentre nell'uomo **da 5 fino a 7 anni**.

L'approccio TEF/TEQ si basa su due presupposti:

1. tutti i congeneri condividono un unico meccanismo d'azione;
2. presenti in miscele, i loro effetti sono additivi.

L'approccio TEF/TEQ non è valido per le risposte tossiche che non coinvolgono il recettore Ah.

# Fattore di Tossicità Equivalente

Due assunzioni:

- 1)** Si parte dal presupposto che la **TCDD** sia l'unica diossina completamente caratterizzata dal punto di vista tossicologico.
- 2)** Si assume che altri congeneri **PCDD/F** ed i **non-orto/mono-orto PCB** siano in grado di provocare gli stessi effetti della TCDD ma con un'intensità diversa.

Allo scopo di stimare il potere tossico delle altre diossine, stati introdotti i **Fattori di Tossicità Equivalente (TEF)**, Van der Berg et al., 1998) calcolati in seguito a studi di tossicità effettuati *in vivo* ed *in vitro* su diossine e non-orto PCB.

Note:

- ✓ Esistono diversi TEF (International-TEF, Nordic-TEF, etc..) ma quelli che trovano più consenso sono i **WHO-TEF**.
- ✓ Il WHO-TEF non è altro che un fattore correttivo da applicare alla concentrazione analitica del congenere. Il risultato ottenuto rappresenta il **TEQ** ossia la **Tossicità Equivalente**.
- ✓ La **tossicità totale** di una miscela di diossine e PCB (ovvero la somma delle concentrazioni corrette per i TEFs) è data dalla somma dei TEQs



# Effetti sulla salute

Sulla scia della letteratura scientifica, la stima della **quantità di diossine assimilabile** per giorno è variata negli anni.

## ***Tolerable daily intake (TDI; dose giornaliera tollerabile)***

**Definizione**: quantità massima di una certa sostanza che può essere assunta in modo prolungato nel tempo senza causare danni alla salute

La maggior parte dei TDI sono stati stabiliti in seguito a studi effettuati su animali, a cui è applicato un fattore correttivo (di 100 in genere) per ricavare i TDI nell'uomo.

### **1998**

La **WHO** ha suggerito come TDI per le **diossine** un valore di **1-4 pg TEQ/kg di peso corporeo al giorno**.

### **2001**

Il Comitato Scientifico dell'Alimentazione Umana (**SCF**) ha stabilito **una dose settimanale ammissibile di 14 pg e mensile di 70 pg TEQ/kg di peso corporeo**.

# Effetti sulla salute

È stato dimostrato che l'esposizione prolungata (cronica) a diossine causa **danni al fegato, alterazioni del sistema immunitario, formazione e promozione di tumori, teratogenesi, malattie della pelle, alterazione dei livelli ormonali e dei fattori di crescita.**(Ahlborg et al., 1988; Peterson et al., 1993; Phjanvirta et al., 1994; Poland et al., 1982; Bertazzi et al., 1998)

In quasi tutti i casi si fa riferimento alla **TCDD**.

La difficoltà degli studi di tossicità sull'uomo è legata al fatto che tali studi possono essere condotti solo in casi di incidenti sporadici e spesso la comunità scientifica ha espresso **pareri discordanti**.

Gli effetti da esposizione acuta, osservati in occasione di alcuni incidenti, danno luogo a meno incertezze in quanto si è trattato principalmente di malattie cutanee come **cloracne, congiuntiviti, cisti sebacee ed iperpigmentazioni**.

# Effetti tossici delle diossine (II)

La sintomatologia principale è:

- la **cloracne**: il cui quadro clinico può protrarsi per parecchi anni. **Alla base di questa alterazione cutanea si ritrova una alterazione nel differenziamento delle cellule delle ghiandole sebacee dovuta a 2,3,7,8-TCDD.**
- Altri sintomi, osservati in lavoratori affetti da cloracne, in seguito ad esposizione acuta a composti chimici contenenti impurezze di PCDD/F, sono iperpigmentazione, irsutismo, ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia, disturbi all'apparato digerente, anoressia con perdita di peso, insonnia e alterazioni della personalità

Oltre alla cloracne tra gli effetti più frequentemente osservati nell'uomo inseguito a contaminazione da DLCs bisogna ricordare:

- alterazioni del metabolismo del glucosio e diabete
- aumento della concentrazione della gamma glutamil transferasi
- alterazione della concentrazione degli ormoni riproduttivi nell'uomo
- alterazioni della funzioni del fegato
- possibili alterazioni dei lipidi sierici e della concentrazione del colesterolo
- possibili danni alla vista
- aumento della mortalità per malattie cardiovascolari
- atrofia del timo e alterazione della differenziazione dei linfociti T

La **2,3,7,8-TCDD ha anche proprietà teratogene ed embriotossiche e non genotossiche.** In base ai risultati ottenuti attraverso gli studi epidemiologici, la 2,3,7,8-TCDD esercita sull'uomo al massimo una **debole azione tumorigena solo in caso di esposizioni elevate, con meccanismi epigenetici.**