

# Università degli Studi di Trieste

Corsi di Studio

SAMAC (fondamentale)

ECG (a scelta dello studente)

---

## Interazione con il biota:

- ❖ Effetti ecotossicologici
- ❖ Fattori che determinano gli effetti ecotossicologici
- ❖ Processi di assorbimento cellulare, meccanismi attivi e passivi
- ❖ Meccanismi di distribuzione all'interno degli organismi
- ❖ Metabolismo ed escrezione
- ❖ I sistemi di detossificazione
- ❖ Metaboliti e cataboliti: rilevanza ambientale
- ❖ Bioconcentrazione
- ❖ Bioaccumulo
- ❖ Biomagnificazione
- ❖ Interferenti endocrini: modulatori e distruttori endocrini, meccanismi d'azione, finestre di sensibilità, effetti transgenerazionali
- ❖ Rischi per la salute umana

## ECOTOSSICOLOGIA

Prof. Monia Renzi (BIO/07)

[mrenzi@units.it](mailto:mrenzi@units.it)

III anno – I Semestre

*La tossicità si manifesta come insorgenza di “effetti avversi” nei confronti degli organismi entrati in contatto con un contaminante (fase tossicodinamica).*

## Tipologie di effetto ecotossicologico

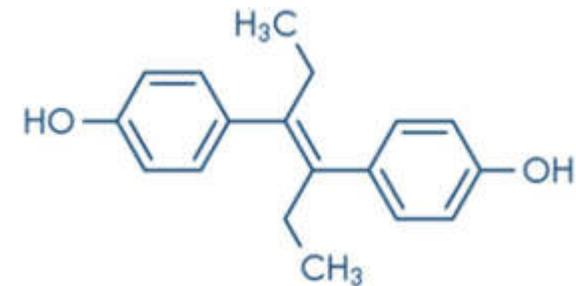
- Locali (nel sito di contatto, es. sostanze corrosive);
- Sistemici (in organi diversi dall'organo bersaglio);
- Misti (sia locali che sistemici, es. alcune sostanze irritanti, piombo tetraetile).

Le sostanze possono accumularsi quando l'assorbimento supera l'eliminazione.

L'accumulo di per sé non è indicativo di effetto avverso in quanto le sostanze possono restare stoccate nel tessuto di accumulo senza provocare danni.

Altre sostanze, es. pesticidi organofosforici e danno al SNC, possono avere effetti cumulativi sebbene la sostanza non sia accumulata.

*Dal punto di vista della scala temporale di manifestazione degli effetti, alcune sostanze possono avere effetto non immediato ma ritardato (es. cancro vaginale in giovani donne nate da madri esposte al dietilstilbestrolo durante la gravidanza).*



diethylstilbestrol

Stimola la sintesi di estrogeni e progesterone nella placenta.

Usata dal 194-1970 negli Stati Uniti per prevenire l'aborto.

## Tipologie di effetto ecotossicologico



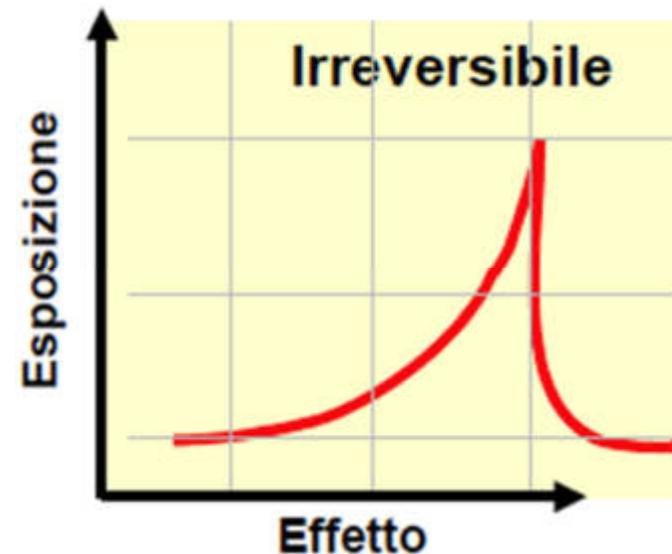
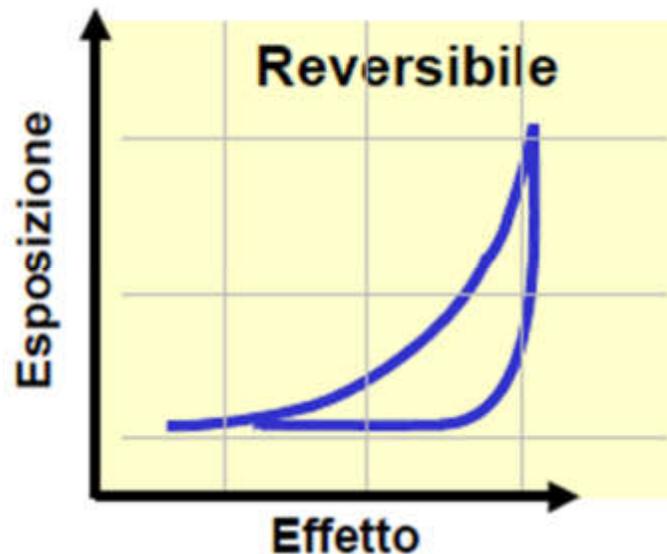
- Reversibili

Tipico di organi ad elevata capacità autorigenerativa (es. fegato)



- Irreversibili

Tipico di organi a scarsa o nulla capacità autorigenerativa (es. sistema nervoso centrale)



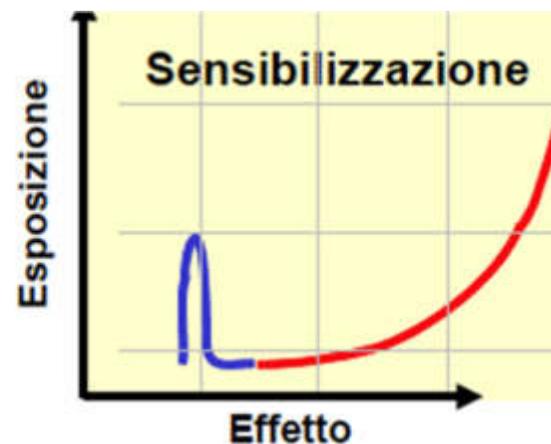
## Tipologie di effetto ecotossicologico

- **Tolleranza**

Diminuita sensibilità in seguito alla esposizione a sostanze con struttura simile

- **Resistenza**

Insensibilità quasi completa alla sostanza (tipicamente riflette una capacità metabolica di eliminare la sostanza e i suoi metaboliti rapidamente).



- **Sensibilizzazione**

Effetto amplificato a seguito di una esposizione con azione sensibilizzante nei confronti della sostanza.

## *I fattori che interferiscono con l'effetto ecotossicologico*

- ✓ Tossicità intrinseca, concentrazione e forma chimica della sostanza (biodisponibilità e meccanismo di interazione con le strutture biologiche target);
- ✓ Ruolo biologico della sostanza chimica considerata (elementi essenziali, non essenziali, xenobiotici);
- ✓ Specie considerata (es. piante accumulatrici di metalli);
- ✓ Modalità di interazione con la sostanza tossica (uptake della sostanza e vie di esposizione, durata e frequenza dell'esposizione);
- ✓ Meccanismi di detossificazione sviluppati dalla specie target;
- ✓ Possibilità di raggiungere organi e strutture bersaglio;
- ✓ Sensibilità individuale alla sostanza;
- ✓ Peso corporeo individuale (ove rilevante);
- ✓ Fase del ciclo vitale;
- ✓ Interazioni con la matrice ambientale e con altre sostanze presenti in ambiente (sinergia, antagonismo, neutralità);
- ✓ Condizioni ambientali esterne (temperatura, pH).



## *BIODISPONIBILITA'*

La capacità di un contaminante di essere assorbito o adsorbito da un organismo attraverso processi attivi (biologici) o passivi (fisici o chimici).

Ovvero di legarsi a, o attraversare superfici biologiche (cute, epitelio branchiale, parete intestinale, membrane cellulari ecc).

Il concetto di biodisponibilità include una caratteristica fondamentale: il contaminante deve essere in grado di reagire su un target biochimico inducendo una risposta biologica.

**I metalli nell'acqua tendono a formare complessi con leganti di tipo inorganico ed organico**

### **PARTICOLATO INORGANICO**

**Particelle di argilla e di sabbia fine con capacità adsorbente**

### **PARTICOLATO ORGANICO**

**Molecole organiche derivanti da processi di decomposizione**

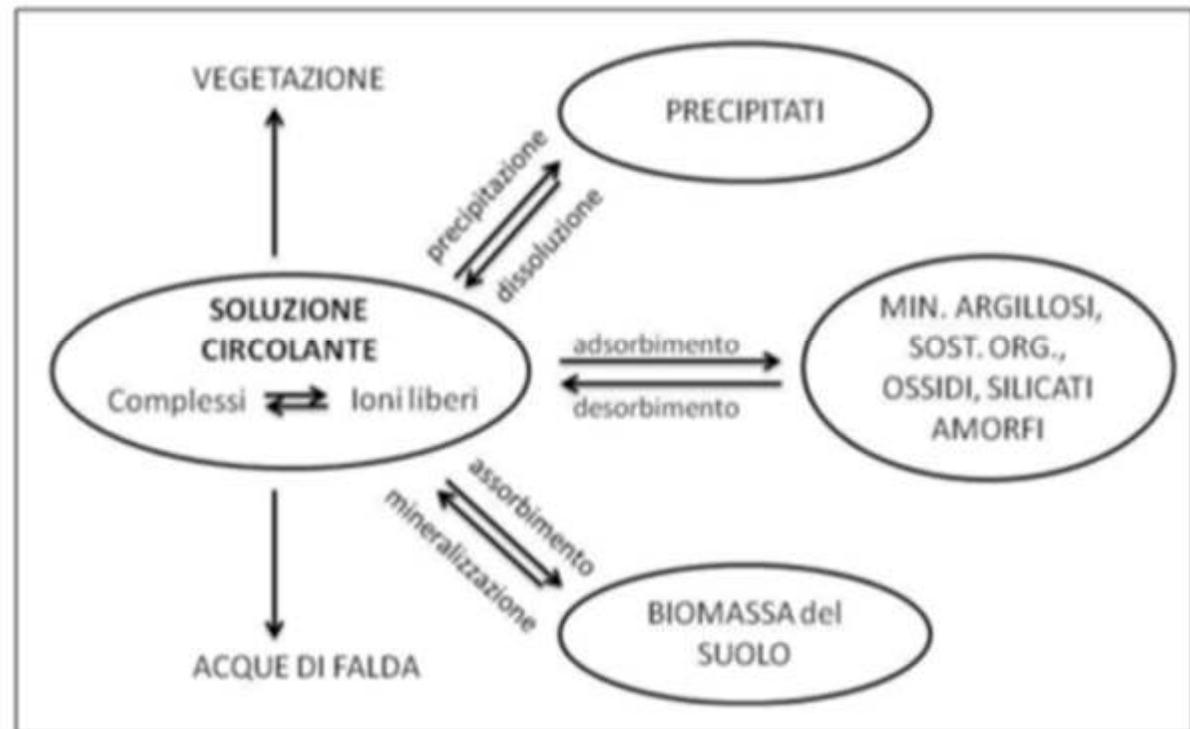
### **VIRUS, BATTERI, MUFFE**

**Quali possibili vettori per gli organismi che se ne nutrono**

## *Forma chimica della sostanza (biodisponibilità e meccanismo di interazione con le strutture biologiche target)*

**Le proprietà chimico-fisiche delle sostanze determinano la loro capacità di contattare il biota**

- Solubilità
- Pressione di vapore
- $K_{ow}$
- Reattività e mobilità
- Resistenza alla degradazione



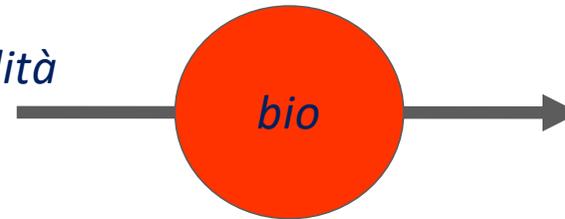
## Fattori che modulano l'output:

- Escrezione (milza, bile, branchie, escreti)
- Biotrasformazione (MFO, enzimi idrolitici, altro)
- Bioaccumulo (comparti, prodotti di accumulo)

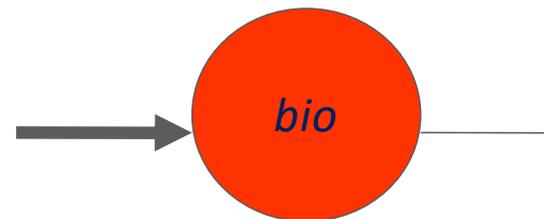
## Fattori che modulano l'input:

- Livelli ambientali
- Biodisponibilità
- Livello trofico
- Persistenza
- Comparto ambientale

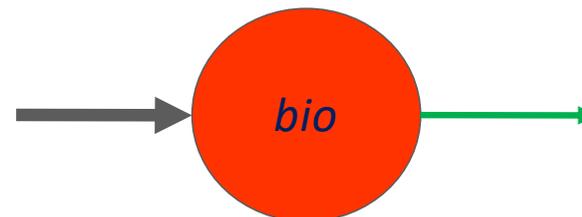
*Bassa o assente biodisponibilità  
oppure regolazione*

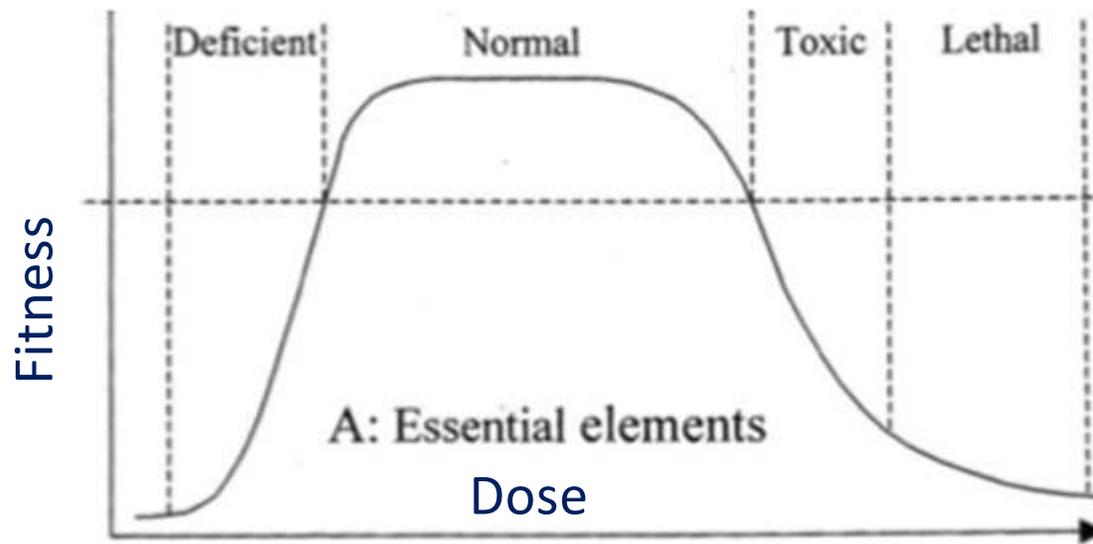


*Uptake-intake-eliminazione*



*Uptake-intake-eliminazione  
bioattivazione*





*Ruolo biologico della sostanza  
chimica considerata  
(elementi essenziali, non  
essenziali, xenobiotici)*



Se l'esposizione non raggiunge un livello minimo si hanno effetti negativi, ma l'organismo funziona "normalmente" per esposizioni superiori a questo minimo.

In alcuni casi, tuttavia, superata una determinata esposizione massima tollerabile, si ripresentano effetti dannosi.

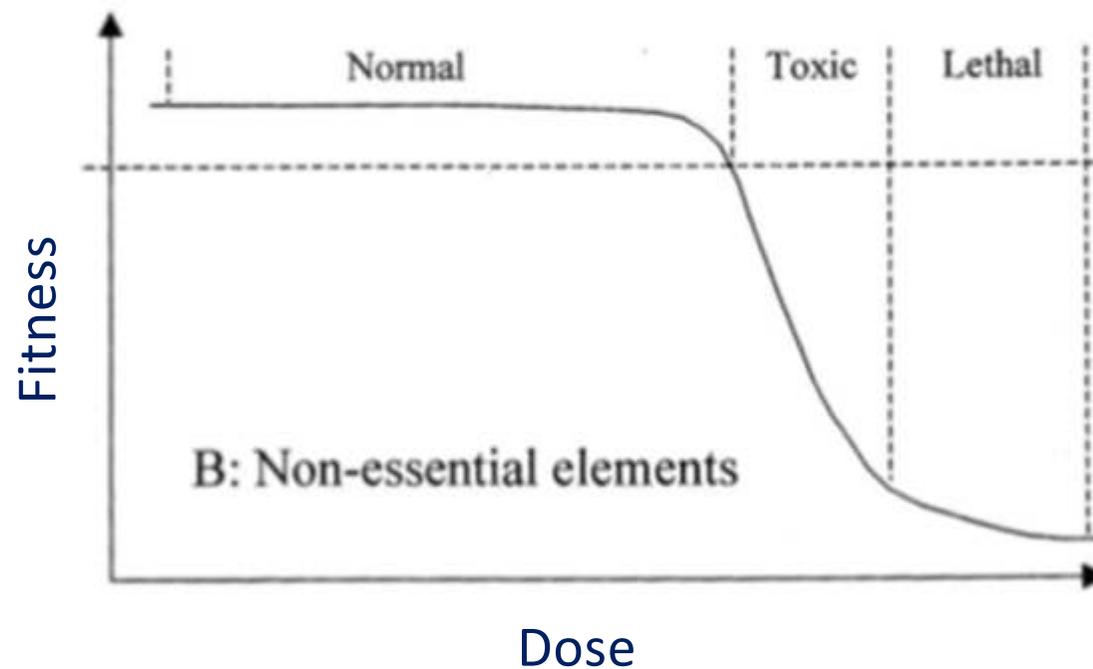
Tra gli elementi essenziali C, H, N, O, P e S.

Sono essenziali per le piante Ca, Cl, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn.

Per alcuni organismi, anche se non tutti, B, I, Si.

Da verificare: As, Br, Cr, F, Ni, Sn, V (Bowen, 1979).

*Ruolo biologico della sostanza chimica considerata  
(elementi essenziali, non essenziali, xenobiotici)*



*Specie considerata (es. piante accumulatrici di metalli)*

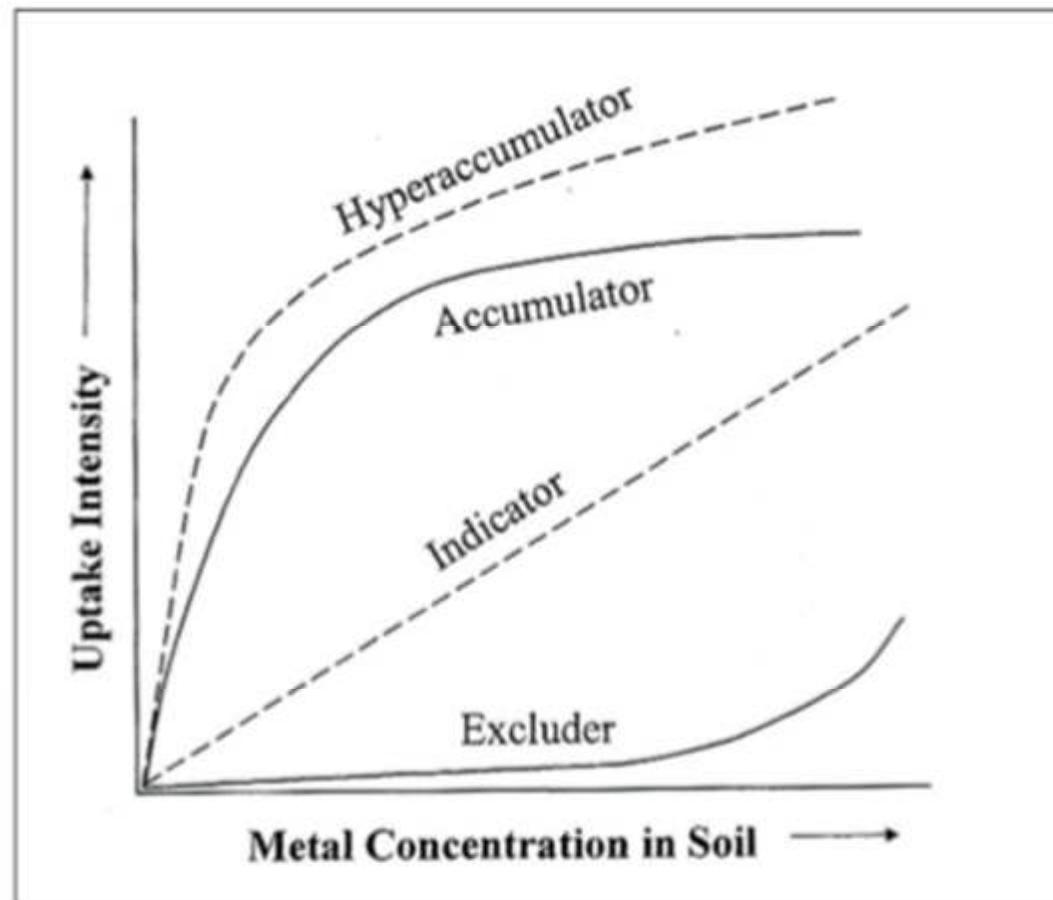
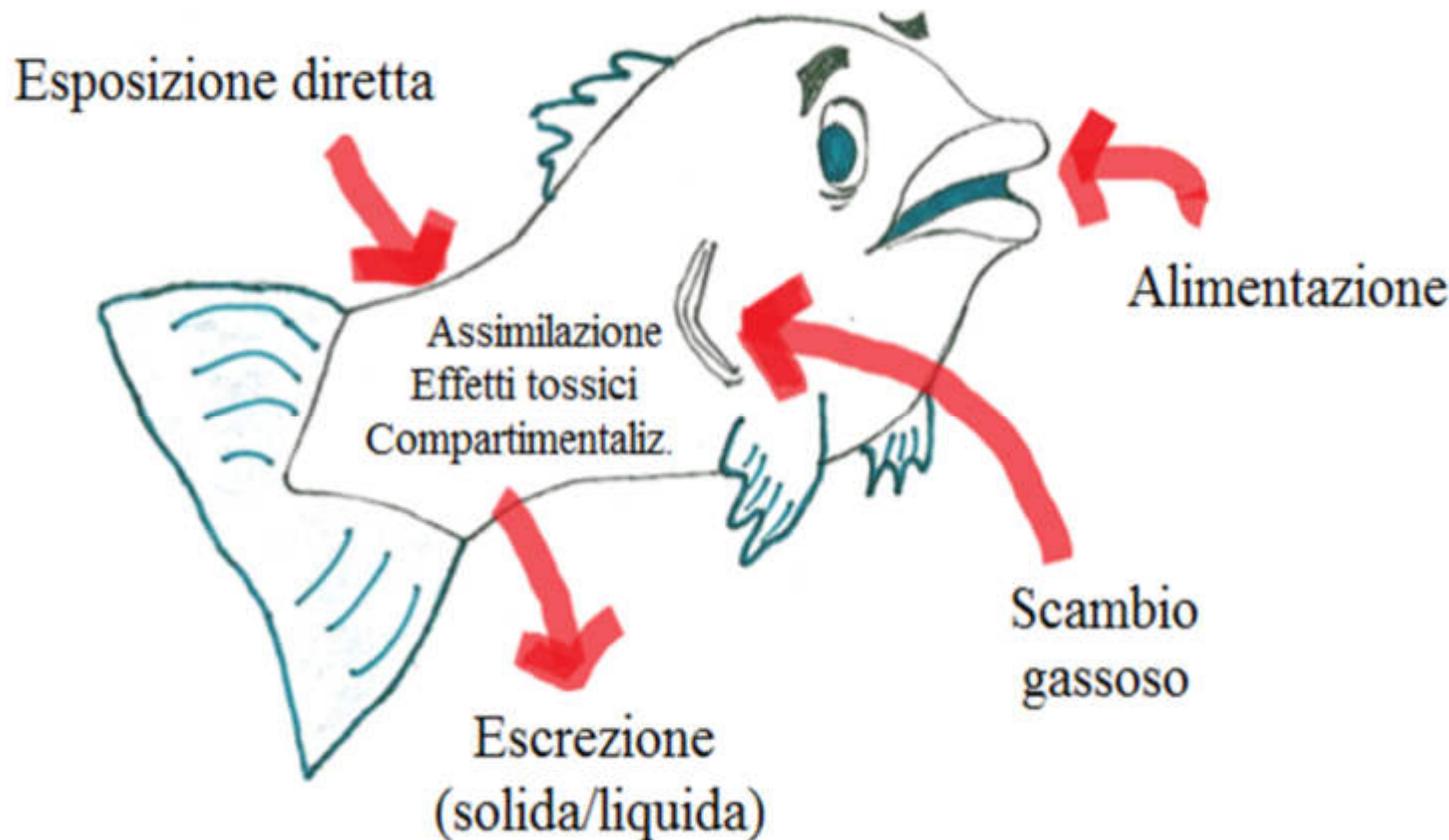


Figura 2: *Uptake* delle piante in relazione al loro potenziale di bioaccumulo e alla concentrazione nel suolo (Adriano, 2001).

## Modalità di uptake della sostanza e vie di esposizione

L'assunzione può avvenire attraverso diverse vie di esposizione.

Una sostanza è di interesse ecotossicologico solo se produce danni di tipo tossicologico (es. non sono di interesse ecotossicologico danni fisici, annegamento e asfissia).



Una sostanza è in grado di produrre danni di interesse ecotossicologico se raggiunge una parte sensibile di un organismo ad una concentrazione sufficientemente elevata per un periodo di tempo sufficientemente lungo.

## Possibilità di raggiungere organi e strutture bersaglio

*La tossicità di un composto è funzione della dose interna dello stesso e della sua permanenza media a livello del bersaglio.*



### *Destino di un composto chimico in un sistema biologico*

*La sostanza (od un suo metabolita attivo) deve raggiungere il bersaglio ad una dose e per un periodo temporale efficace.*

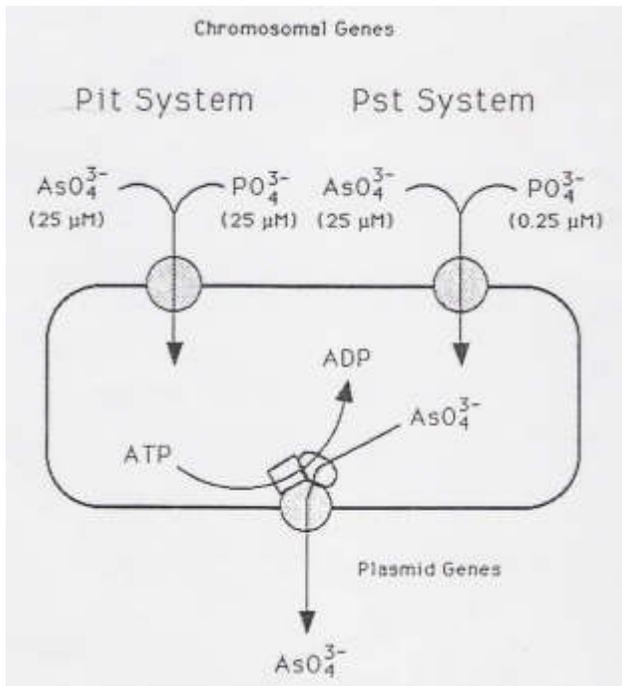
*La dose che raggiunge l'organo bersaglio è una frazione della dose di esposizione. Solitamente è convenzione considerare il tossico diluito omogeneamente all'interno della massa corporea, è per questo che la dose tossica si esprime in  $\text{mg}/(\text{kg di peso corporeo} * \text{die})$ .*

*Il modello rappresentato seppure in modo semplificato identifica i processi più importanti la cui interazione determina o meno l'effetto tossico. Tuttavia, considerando una data sostanza, a seconda della specie tali processi avranno differenti ampiezze d'azione determinando quella che è nota come "tossicità selettiva"*

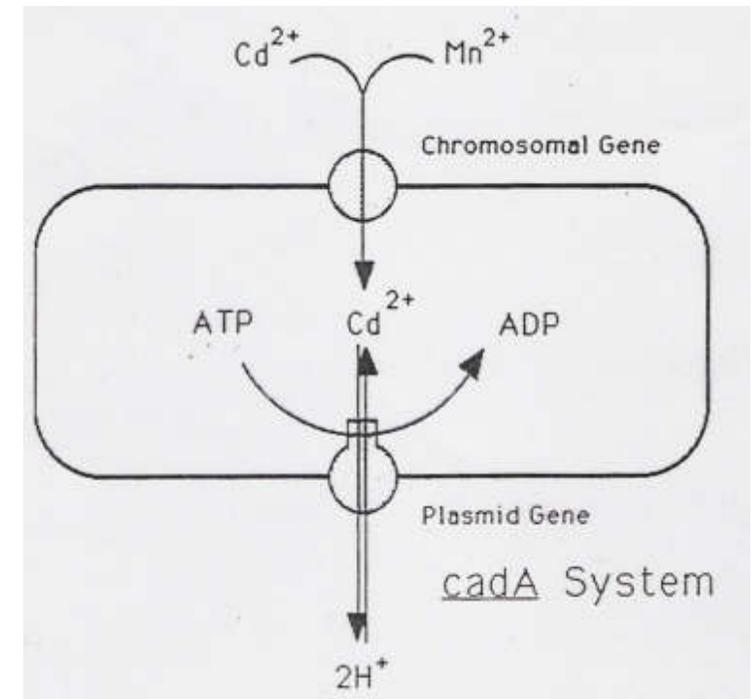
*Il tipo di assunzione condiziona il destino della sostanza nell'organismo esposto.*



# Meccanismi di detossificazione sviluppati dalla specie target



**Regolazione delle concentrazioni interne (anche di elementi potenzialmente tossici ad elevate concentrazioni ambientali quali rame, zinco e selenio).**



**CONCENTRAZIONE ACCUMULO**

**ESCREZIONE**

**ASSUNZIONE  
GIORNALIERA  
ELEVATA**

**MANCANZA DI  
SISTEMI DI ESOREZIONE  
SECONDARI**

**VITA MEDIA ELEVATA**

## Perché il cioccolato è tossico per i cani?

Ciò che è veramente tossico per il cane è una classe di composti alcaloidi (una molecola con un gruppo azotato basico), le metilxantine.

Le più celebri sono la teobromina, la caffeina, e la teofillina.



Tecnicamente, le metilxantine sono tossiche per tutti, uomo incluso, sono stimolanti del sistema nervoso: competono per i recettori dell'adenosina nel cervello e nel resto dell'organismo.

L'adenosina ha una miriade di funzioni, tra cui quella di neuromodulatore: riduce la frequenza degli impulsi nervosi spontanei e in questo modo rallenta il rilascio di altri neurotrasmettitori.

# Sensibilità specifica alla sostanza

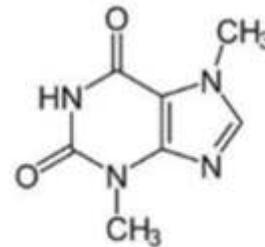
## Perché il cioccolato è tossico per i cani?



In realtà, per i gatti (pesano meno) è ancora più letale, ma i gatti non hanno recettori per il dolce e non la mangiano. I cani che i recettori per il dolce li hanno, tendono ad assumerla con gusto.



L'emivita (tempo di dimezzamento) delle sostanze influenza la tossicità.



TEOBROMINA

1g



7 ore di emivita

17,5 ore di emivita

Questo dipende dall'enzima citocromo P450 1A2 che degrada la teobromina, abbreviato CYP1A2. L'efficienza del citocromo umano è diversa da quella dell'equivalente nel cane con risultati importanti sulla tossicità.

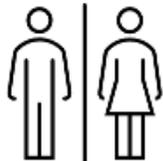
# Caratteristiche individuali

## Variabilità interspecifica

La diversa sensibilità è definita geneticamente (es. presenza di recettori, vie di uptake e di trasporto, meccanismi di detossificazione) con differenze di sensibilità accentuate nel caso di organismi lontani nella scala evolutiva.

## Variabilità intraspecifica

Variabilità genetica e biologica (età, sesso, stato di salute) in popolazioni della stessa specie determina una diversa risposta quantitativa a seguito dell'esposizione alla stessa concentrazione di tossico.



Ad esempio, le donne hanno versioni del CYP1A2 più efficienti di quelle degli uomini, le popolazioni caucasiche hanno una variante meno attiva di quelle africane.

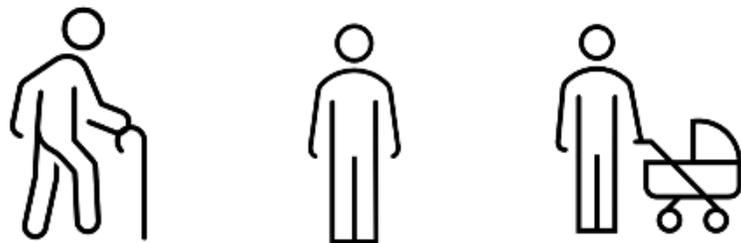
## Sensibilità individuale

CYP1A1 è un'isoforma, esistono piccole differenze a livello genetico (differenze di una singola base nel gene per la proteina), di splicing (cioè partendo dallo stesso gene si assemblano le parti in modo differente) o a livello post-traduzionale (gruppi chimici che vengono aggiunti dopo la sintesi e modificano la forma 3D della proteina modifica).

In molti crostacei l'età degli organismi (intesa come anzianità e non come diversa fase dello sviluppo embrionario-larvale) influisce sulla risposta ai contaminanti.

Individui senescenti tendono a essere più sensibili rispetto agli individui più giovani.

Per evitare problemi legati all'effetto età, alcuni protocolli sperimentali prevedono la selezione di specifiche classi di taglia degli individui da utilizzare (come nel caso degli anfipodi).



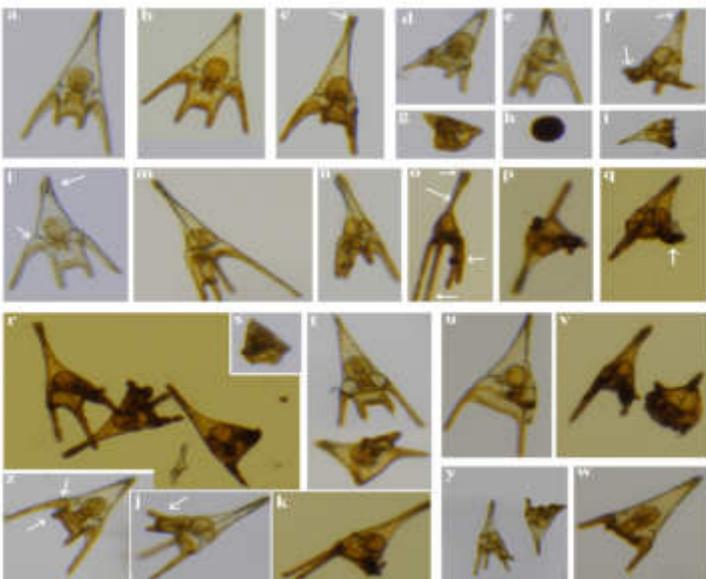
### Peso corporeo



La tossicità della nicotina per somministrazione orale è **6,5-13 mg/kg/die (LD50)**, corrispondente a **500-1000 mg di molecola attiva**.

- Un adulto di 80 kg deve assumere una quantità assoluta di nicotina di 520-1040 mg/die.
- Una donna di 50 kg deve assumere una quantità di 325-650 mg/die
- Un bambino di 15 kg deve assumere 97,5-195 mg/die.

# Fase del ciclo vitale



*Alcune fasi di sviluppo sono particolarmente sensibili alla tossicità esercitata dalle sostanze chimiche*

*Questo vale per tutti gli organismi viventi, uomo incluso*

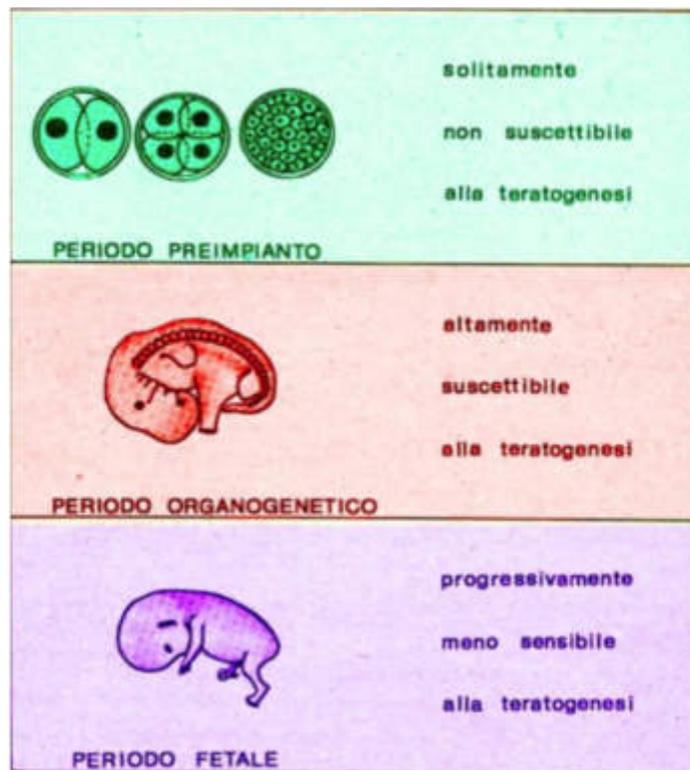
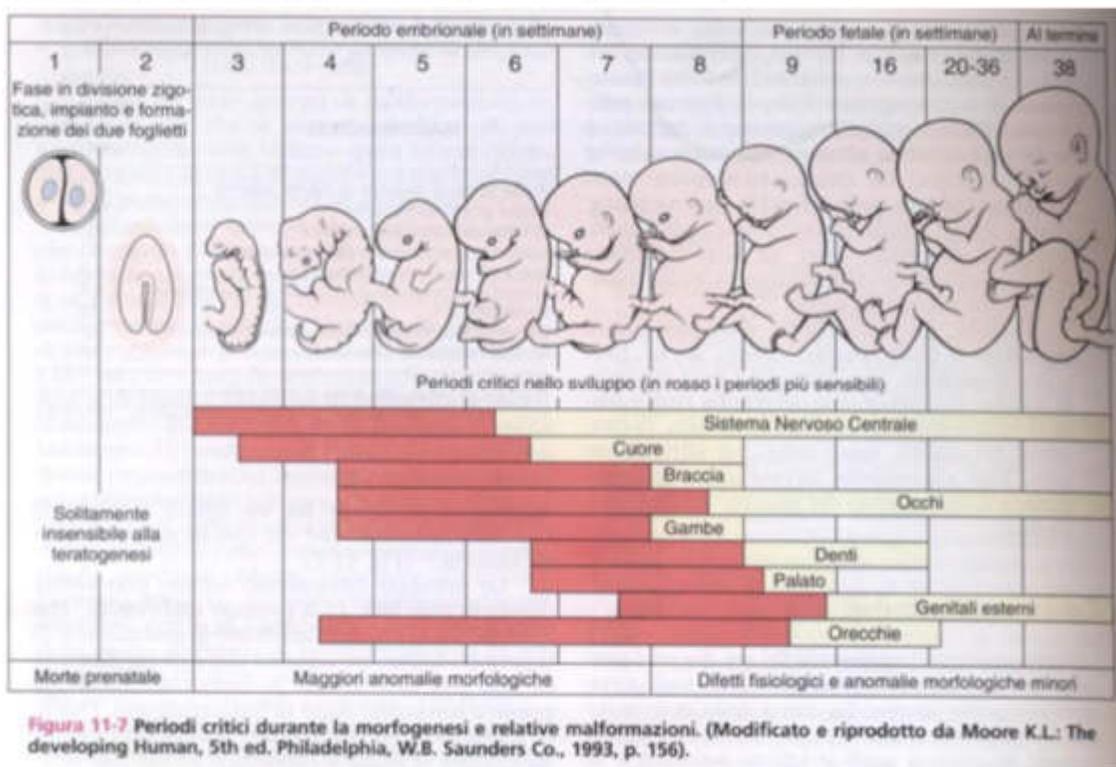
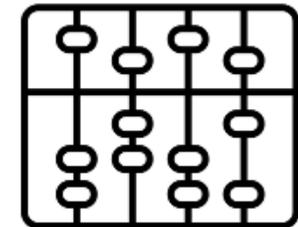


Figura 11-7 Periodi critici durante la morfogenesi e relative malformazioni. (Modificato e riprodotto da Moore K.L.: The developing Human, 5th ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1993, p. 156).

## *Interazioni con la matrice ambientale e con altre sostanze presenti in ambiente (sinergia, antagonismo, neutralità)*

### **EFFETTO ADDITIVO (2+2=4)**

**Azione congiunta indipendente o additività di risposta:** è il caso in cui più sostanze agiscono in modo indipendente ed hanno effetti tali che la presenza di una sostanza non influenzerà la tossicità dell'altra o la tossicità combinata è pari alla somma delle risposte dei singoli componenti.



**Simile azione congiunta o additività di dose o di concentrazione:** è il caso di sostanze che causano effetti simili attraverso meccanismi d'azione simili; ad esempio: un composto produce gli stessi effetti di un'altra sostanza diluita

## *Interazioni con la matrice ambientale e con altre sostanze presenti in ambiente (sinergia, antagonismo, neutralità)*

### ***EFFETTO ADDITIVO (0+2=10)***

*L'effetto di potenziamento descrive la situazione in cui una sostanza, se somministrata singolarmente, non produce effetti avversi per uno specifico organo/ tessuto, ciononostante nel caso di esposizione combinata con altre sostanze queste ultime rendono il primo composto tossico, in entità maggiore che la seconda sostanza singolarmente*

### ***EFFETTO SINERGICO (2+2=20)***

*L'effetto sinergico si registra nei casi in cui di fatto si ottengono delle situazioni di potenziamento della risposta tossica, in questi casi quindi l'effetto tossico dell'esposizione a più sostanze è maggiore della somma degli effetti che si avrebbero considerando le sostanze separatamente.*

# *Interazioni con la matrice ambientale e con altre sostanze presenti in ambiente (sinergia, antagonismo, neutralità)*

## **ANTAGONISMO (4+8=6)**

L'antagonismo è la situazione in cui due sostanze interferiscono tra di loro determinando una tossicità osservata minore rispetto alla somma degli effetti delle due sostanze singolarmente.

**Esistono 4 tipi di antagonismo possibile:**

**FUNZIONALE:** è il caso in cui due composti possiedono effetti contrapposti sulla stessa funzione fisiologica.

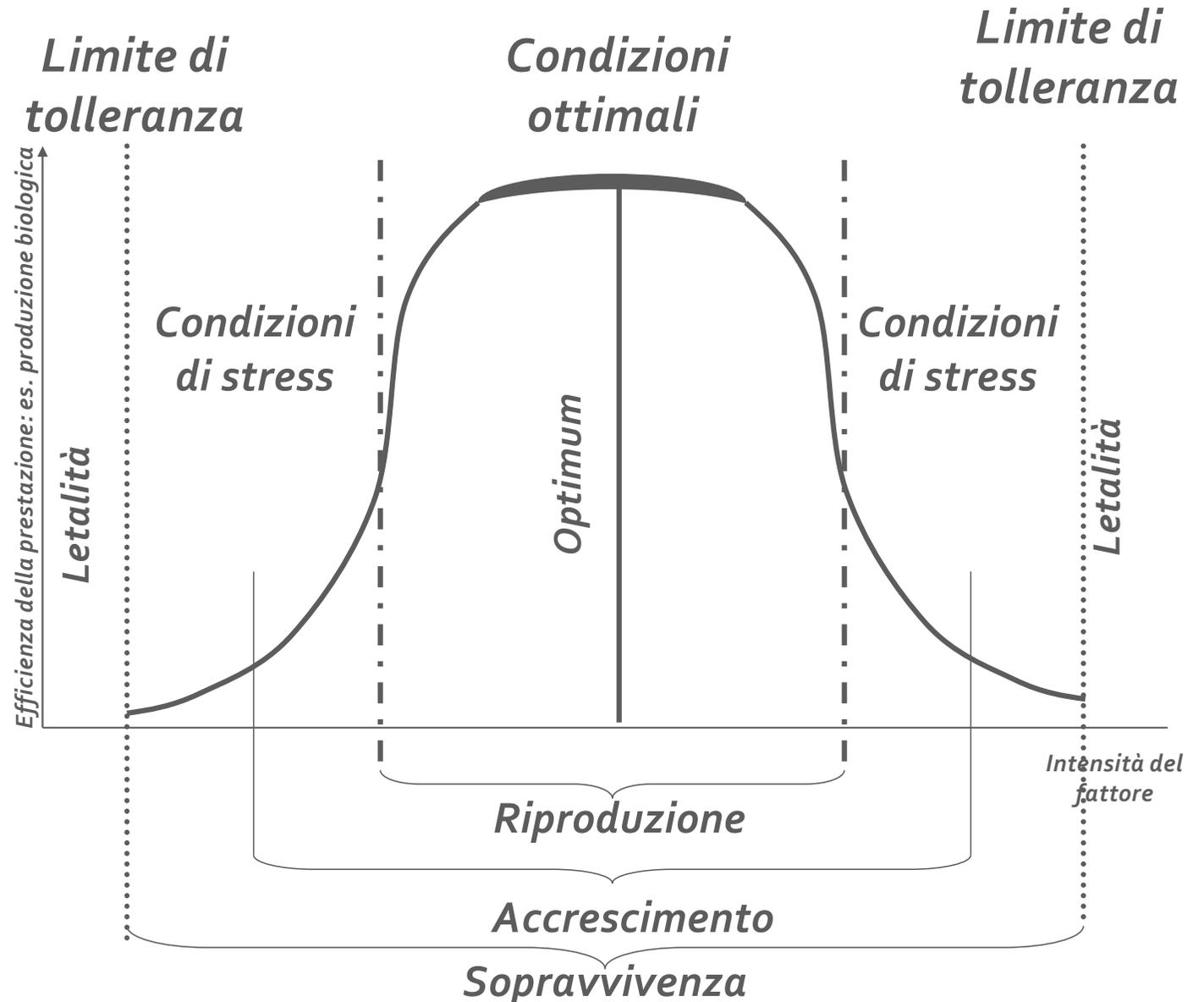
**CHIMICO:** è il caso in cui due molecole tendono a reagire tra loro producendo la formazione di una sostanza chimica meno tossica. Ad es: l'esposizione ad agenti chelanti concomitante all'esposizione a metalli pesanti. (è il principio alla base degli antidoti per le tossine animali).

**CINETICO:** è il caso in cui vengono alterati i tempi di assorbimento/ metabolismo/ distribuzione ed escrezione di una sostanza, comportando una variazione della concentrazione all'organo bersaglio ed una corrispondente riduzione della durata degli effetti.

**RECETTORIALE:** i due xenobiotici si legano, e competono per il legame, con lo stesso recettore, questo comporta una riduzione del legame della sostanza tossica e una conseguente riduzione dell'effetto avverso registrabile.

# Condizioni ambientali esterne e fitness

Ogni organismo può compiere le sue funzioni essenziali finché le condizioni esterne sono all'interno di un determinato intervallo di tolleranza.



È necessario conoscere le condizioni ottimali della specie e standardizzare rigidamente le condizioni a contorno del test (temperatura, salinità, pH ecc.)

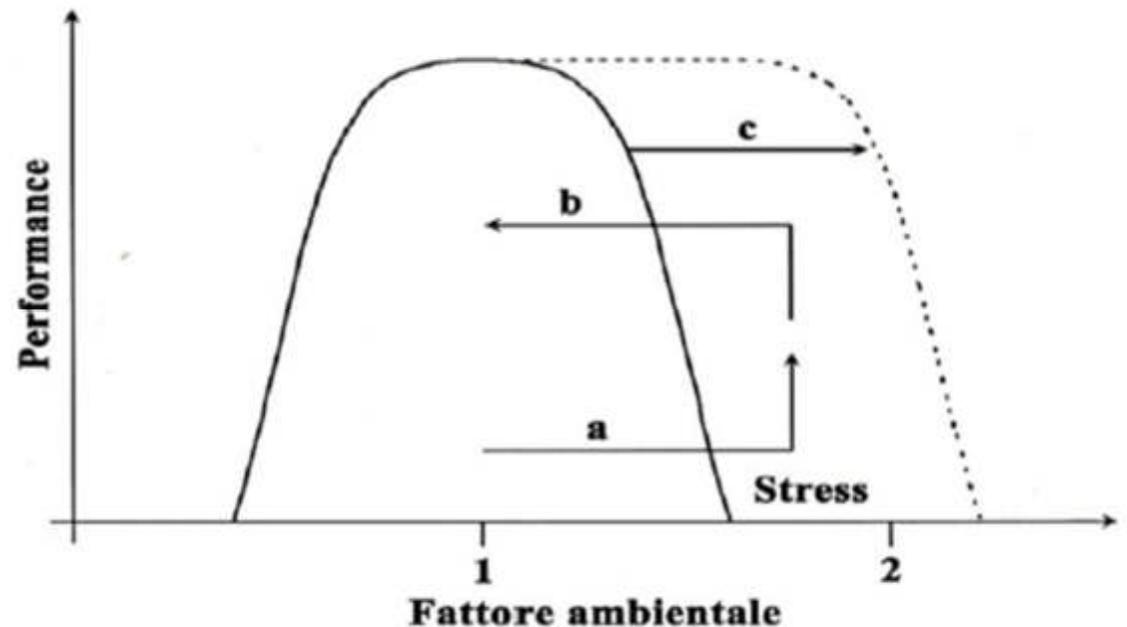
# Condizioni ambientali esterne

Se un fattore ambientale si sposta verso livelli al di fuori del *range* ideale, l'organismo deve mettere in atto dei processi fisiologici che gli consentano di **compensare** lo spostamento dalla condizione di optimum, investendo tuttavia **energia aggiuntiva** nella compensazione.

Se il dispendio metabolico diventa troppo elevato, l'organismo dispone di minori energie per la riproduzione e la ricerca del cibo (deficit energetico).

Se un organismo è sotto stress o esprime un eccessivo investimento metabolico per compensare condizioni ambientali non ottimali, l'esposizione a sostanze tossiche produce maggiori effetti in quanto l'organismo è meno capace di reagire e compensare l'effetto tossico.

Questo aumenta significativamente la sua sensibilità ai contaminanti.



*La condizione di stress (a) può essere superata, se le condizioni ambientali rientrano all'interno della finestra di optimum (b), oppure se l'organismo si "adatta" alle nuove condizioni ambientali (c).*



### *Temperatura*

**Non esiste uno specifico pattern per gli effetti della temperatura sulla tossicità degli inquinanti per gli organismi acquatici.**

Il cambiamento di T in una data direzione può aumentare, diminuire, o non causare cambiamenti nella tossicità. Questo dipende dalla specie e dalla sostanza.

Alcuni studi evidenziano che la temperatura alteri la soglia di effetto cronico degli inquinanti testati (metalli, fenolo, LAS, DDT e altri pesticidi) al massimo di un **fattore 2-4** (Sprague, 1995).

### *pH*

Regola l'equilibrio di dissociazione delle sostanze ionizzabili modificandone l'attività biologica; modifica la speciazione dei metalli.

L'ammoniaca, nella forma non ionizzata ( $\text{NH}_3$ ), la cui concentrazione aumenta all'aumentare del pH, è molto più tossica dello ione ammonio.

In acque dolci il pH assume particolare importanza soprattutto per la disponibilità dei metalli, l'Al in ambiente acido diventa particolarmente aggressivo per i tessuti delle branchie.

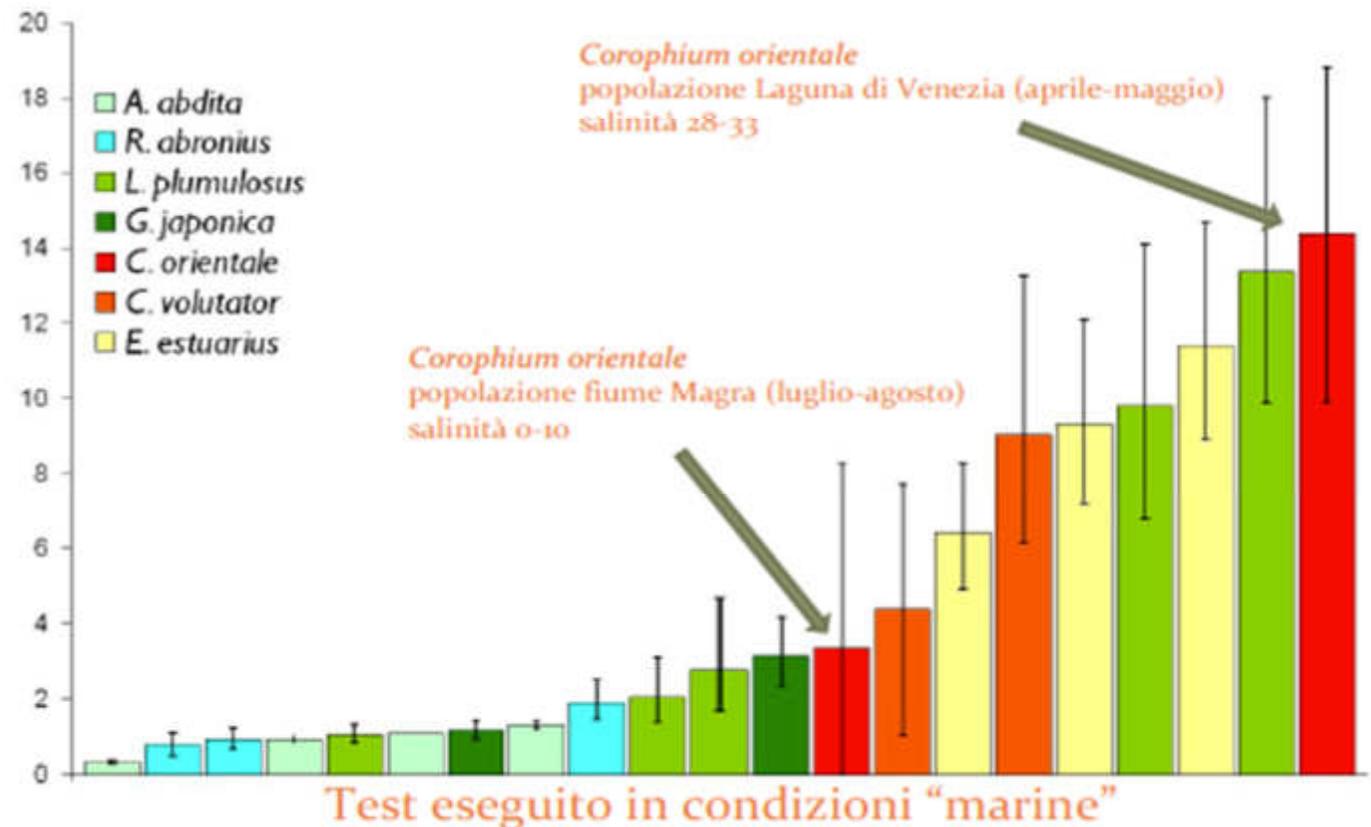
Il pH inoltre può influire direttamente sulla vitalità di alcune fasi critiche del ciclo vitale. Ad esempio valori di pH elevati (vicini a 9) comportano una significativa riduzione della motilità degli spermatozoi dei ricci di mare, che restano vitali in soluzione per meno tempo rispetto a condizioni più neutre.

Una particolare specie può mostrare differenze nella sua tolleranza ai tossici quando la salinità del mezzo cambia. La variazione di salinità costringe l'organismo a mettere in atto delle strategie per mantenere il bilancio osmotico, generando un **dispendio energetico che deve essere considerato una forma di stress**.

Gli organismi estuarini sono quelli maggiormente soggetti a questa forma di stress, in particolare in ambienti caratterizzati da elevate escursioni di salinità.

## Salinità

*In generale, le specie eurialine mostrano la massima tolleranza e quindi capacità di resistere gli inquinanti in acque con salinità vicina al loro punto isosmotico (Sprague, 1995)*



## Condizioni ambientali esterne

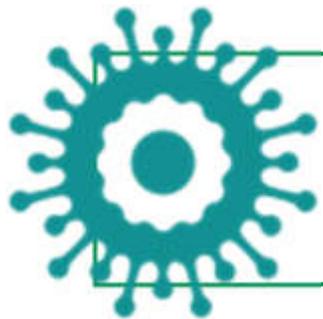
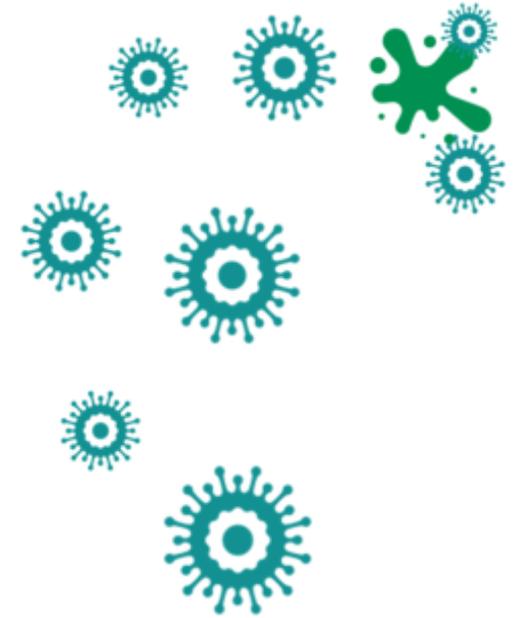
La tossicità è funzione anche dei fattori che regolano la biodisponibilità dei contaminanti nelle acque, nei suoli e nei sedimenti.

I fattori in causa sono i medesimi coinvolti nella limitazione del bioaccumulo, in particolare:

- Chelanti e ligandi in fase disciolta e particellata, che limitano l'adsorbimento e l'uptake via "acqua" (speciazione dei metalli).
- Fasi solide presenti nei sedimenti, in particolare OC e AVS che regolano la ripartizione dei contaminanti tra acque interstiziali e matrice solida.

*Temperatura, pH, potenziale REDOX interferiscono con la biodisponibilità degli elementi.*

Caratteristiche del suolo		Mobilità degli elementi		
Redox	pH	Alta	Media	Scarsa
Ossidante	<3	Cd,Co,Cu,Ni,Zn	Hg,Mn,Re,V	Tutti gli altri
	<5	Cd,Zn	Mo,Re,Se,Sr,Te,V	
Ossidante; ricco di Fe	>5	-	Cd,Zn	
Riducente	>5	-	Cd,Cu,Fe,Mn,Pb,Sr,Zn	
Riducente; con H <sub>2</sub> S	>5	-	Mn,Sr	



**DOMANDE?**