

ZANICHELLI

Fabio Fanti

Biologia, microbiologia e tecnologie di controllo ambientale

Gli inquinanti xenobiotici e la mutagenesi ambientale

Genotossicità di composti chimici e cancerogenesi

Gli **agenti genotossici** o **mutageni** sono quelli che inducono cambiamenti nel DNA.

Le **mutazioni somatiche** possono scatenare fenomeni di **cancerogenesi**, cioè dare origine a tumori.

Se le mutazioni riguardano la **linea germinale** possono essere ereditate.

Gli **agenti teratogeni** inducono anomalie nello sviluppo embrionale, nel feto o nel neonato.

Fonti di esposizione agli xenobiotici /1

Con il termine **xenobiotico** si definisce una sostanza chimica estranea a un sistema biologico o a un intero ecosistema.

1. Ambiente esterno:

- nell'**aria** la combustione di carburanti fossili è la fonte principale di inquinamento (industrie, riscaldamento domestico, auto)
- Il benzene, gli IPA e i loro nitroderivati sono i principali composti tossici nell'**ambiente urbano**
- Le **acque superficiali** vengono inquinate dagli scarichi dei reflui industriali e civili; le **acque di falda** da fitofarmaci, fertilizzanti e diserbanti impiegati in agricoltura
- I **suoli agricoli** sono contaminati indirettamente dalle acque irrigue

Fonti di esposizione agli xenobiotici /2

2. Esposizione professionale:

Interessa addetti ad attività e produzioni industriali e artigianali, esposti ad inquinanti come:

- **Polveri e particolato**
- **Fibre di vetro**
- **Asbesto (amianto)**
- **Fumi, composti chimici**
- **Gas**
- **Metalli pesanti**

È indispensabile la valutazione dei rischi effettivi per la salute e la determinazione di **valori limite di esposizione**.

Fonti di esposizione agli xenobiotici /3

3. Ambiente confinato (indoor):

- **Fumo passivo**
- **Monossido di carbonio:** è il principale prodotto della combustione incompleta
- **COV** (composti organici volatili): provengono da solventi, vernici, pitture
- **Radon:** è un gas che si trova nel terreno e nelle rocce, che deriva dal decadimento dell'uranio 235 e 238; viene utilizzato nei materiali da costruzione
- **IPA e ammine eterocicliche:** si liberano durante alcuni metodi di cottura dei cibi
- **Allergeni biologici** come **muffe, acari della polvere, batteri:** derivano principalmente da uomo e animali

Fonti di esposizione agli xenobiotici /4

4. Alimenti, loro produzione e preparazione:

- **residui** di composti tossici che derivano dall'impiego di fitofarmaci e diserbanti in agricoltura o da xenobiotici presenti nell'aria e nel suolo
- composti che si originano durante la cottura dei cibi: **nitrosammine, IPA, ammine eterocicliche, fenoli**

5. Farmaci

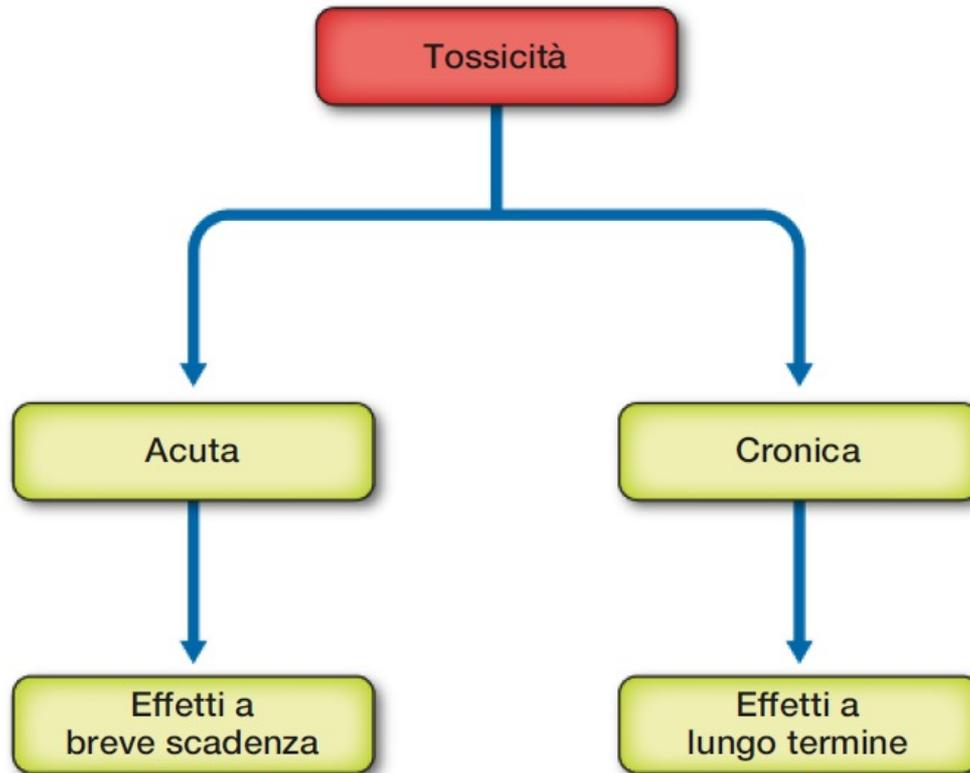
6. Additivi alimentari

7. Detergenti domestici

8. Tossine naturali

Gli effetti acuti e cronici della tossicità

Esistono due tipi di tossicità:

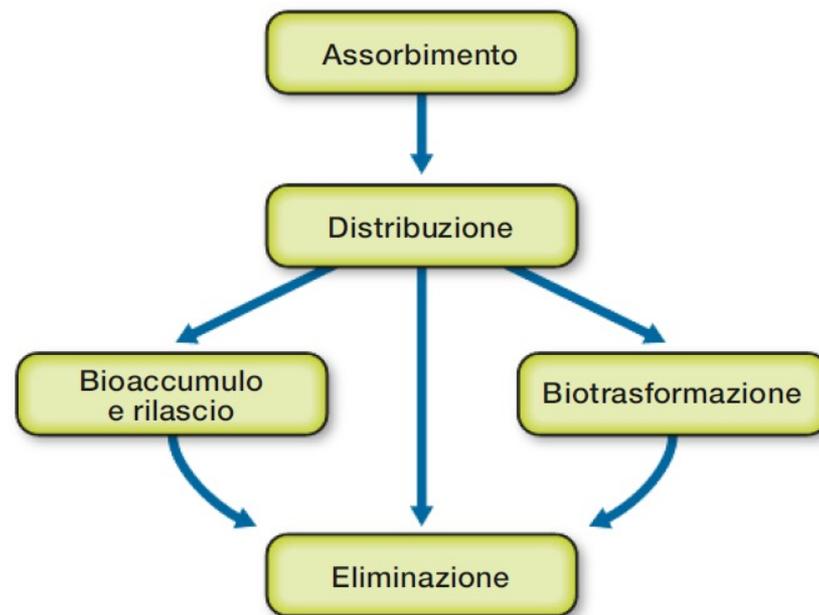


Il **test di Ames** permette di verificare l'eventuale attività mutagena di uno xenobiotico sul DNA batterico per dedurne il probabile effetto cancerogeno sull'uomo.

Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /1

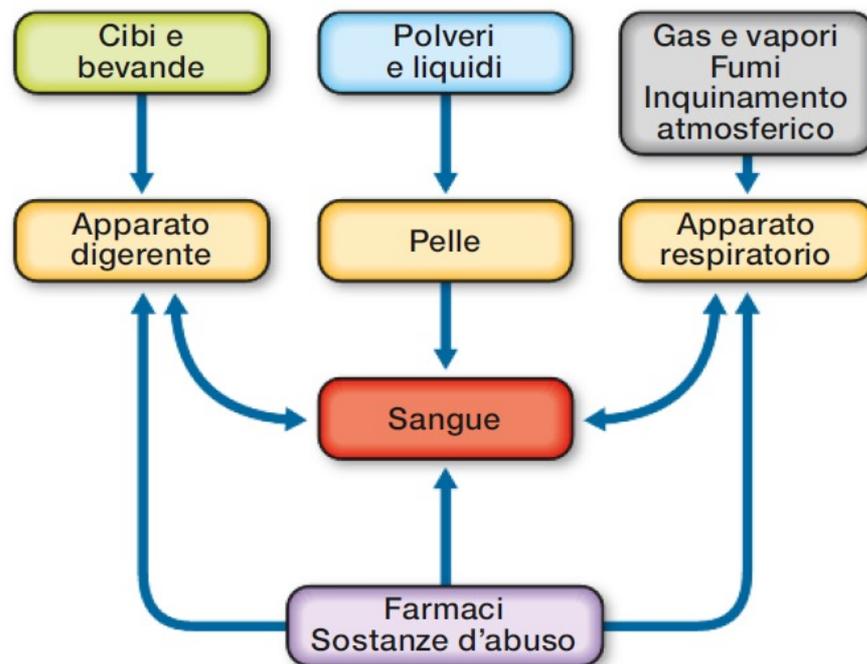
Il destino di un composto chimico che penetra nell'organismo evolve attraverso due fasi:

- **fase tossicocinetica:** dall'assorbimento all'eliminazione della sostanza
- **fase tossicodinamica:** il composto raggiunge l'organo bersaglio; si verificano le interazioni fra tossico e recettore; si produce il danno cellulare e si rendono evidenti gli effetti patologici



Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /2

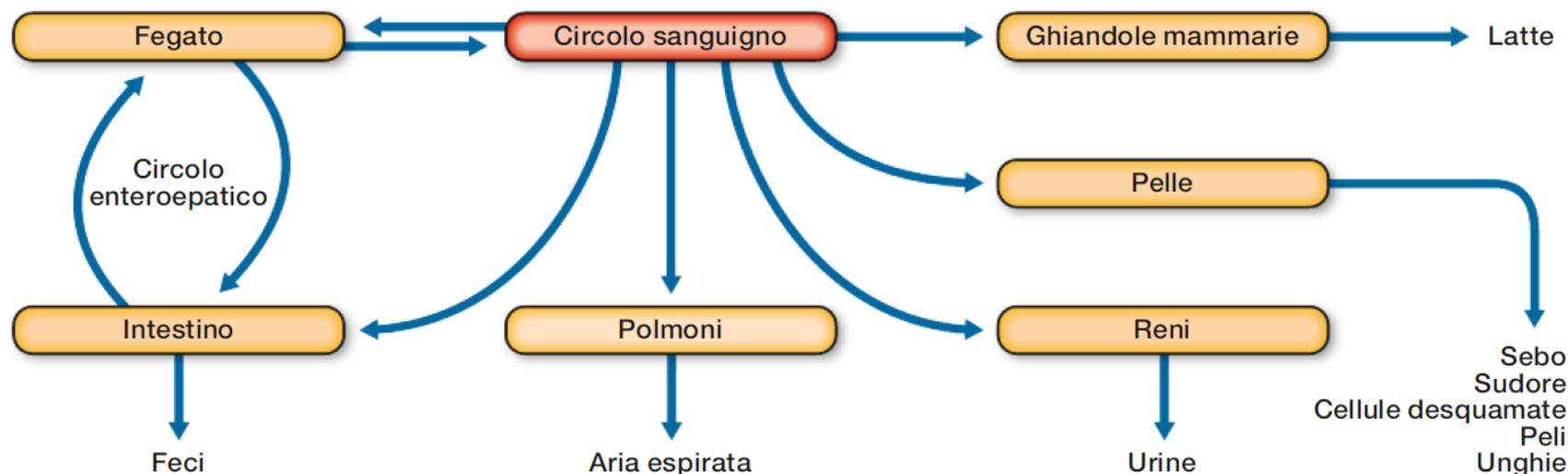
Le vie di **esposizione** agli xenobiotici possono essere differenti:



L'entità dell'**assorbimento** dipende dalla concentrazione della sostanza nell'ambiente; la velocità dipende dalle sue proprietà chimico-fisiche (peso molecolare e idro- o lipo-solubilità).

Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /3

Nei vertebrati il trasporto e la **distribuzione** di uno xenobiotico all'interno dell'organismo avvengono attraverso il circolo sanguigno, i vasi linfatici e l'acqua endocellulare e interstiziale.



Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /4

Biotrasformazione: l'organismo adotta strategie biochimiche e metaboliche per detossificare o inattivare il tossico, per poi eliminarlo all'esterno.

L'organo più interessato a questi processi è il **fegato**, ma sono coinvolti anche l'intestino e il pancreas.

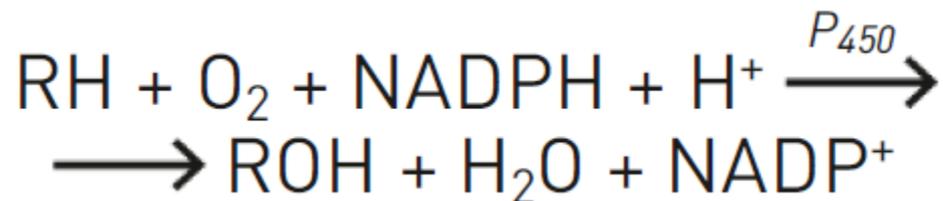
Le biotrasformazioni si compiono attraverso reazioni di fase I e II.

Nella **fase I** si hanno reazioni redox e di idrolisi, in cui le macromolecole xenobiotiche organiche sono parzialmente convertite in composti che hanno dimensioni inferiori e che presentano gruppi funzionali ad alta reattività come -COOH, -SH, -OH.

Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /5

Nella fase I intervengono le **monoossigenasi a funzione mista**, complessi multienzimatici che hanno come coenzima il **citocromo P₄₅₀**.

Il *sistema P450* comprende emoproteine enzimatiche della classe delle ossidasi in grado di ossidare gli xenobiotici in presenza del coenzima NADPH:



Tossicocinetica: dall'assorbimento all'eliminazione /6

Nella **fase II** intervengono enzimi della classe delle **transferasi** che catalizzano reazioni di coniugazione che legano il prodotto della fase I con metaboliti endogeni. L'obiettivo è di rendere più idrosolubile il composto chimico, da eliminare con i fluidi biologici.

L'eliminazione dei composti tossici può avvenire attraverso: i reni, il fegato, i polmoni, le feci, il sudore, la saliva e il latte.

Tossicodinamica e relazione dose-risposta /1

La **tossicodinamica** studia gli effetti e i meccanismi d'azione delle sostanze tossiche, nonché la relazione fra concentrazione del farmaco ed effetto.

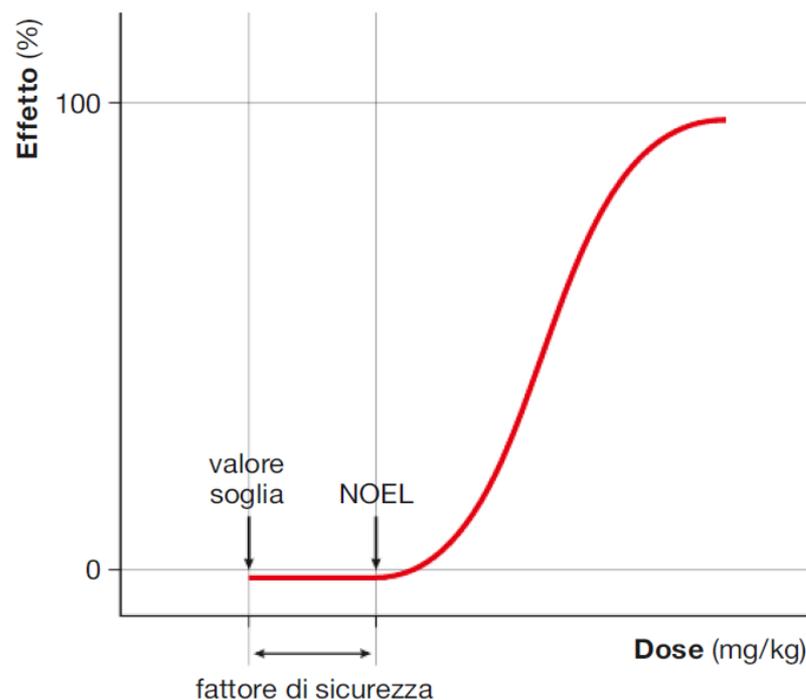
Il parametro fondamentale è la **dose** (espressa in mg/kg o ppm): la quantità di sostanza somministrata per unità di peso dell'animale da esperimento e per il tempo di somministrazione.

L'**azione tossicologica** consiste nell'alterazione funzionale di uno specifico recettore provocata da una sostanza biologicamente attiva.

Tossicodinamica e relazione dose-risposta /2

Si realizzano **curve dose-risposta**:

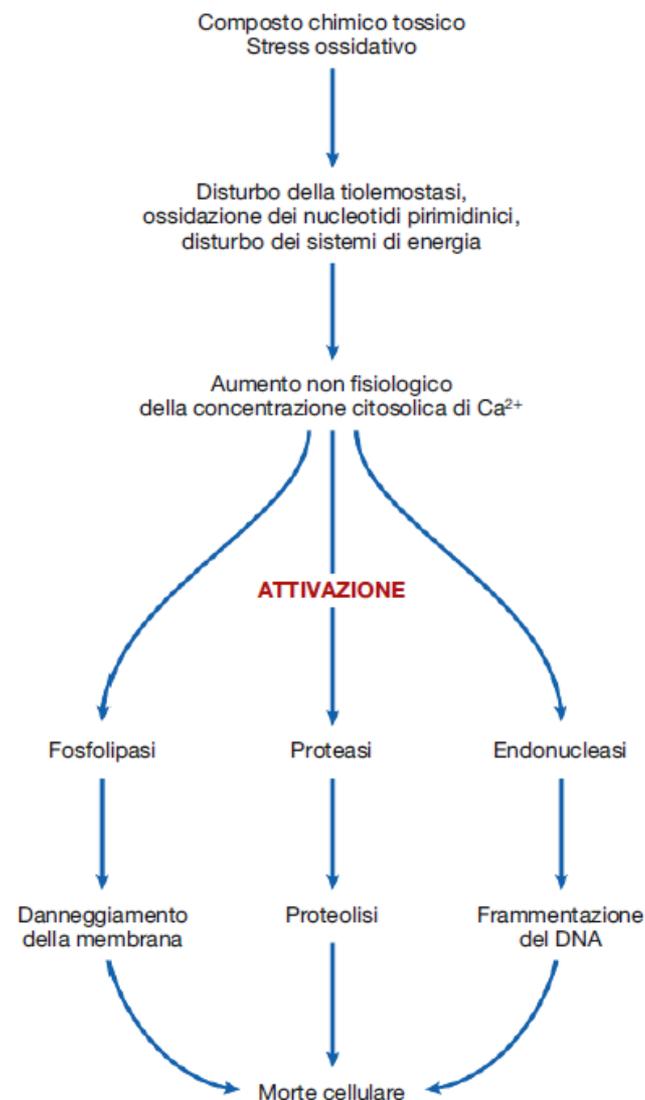
- **valore soglia** = dose più elevata di una sostanza che può essere somministrata o a cui si può essere esposti senza effetti negativi
- **NOEL** (*No Observable Effects Level*) = livello più alto di esposizione a una sostanza a cui non si registrano effetti avversi o non avversi.



Tossicodinamica e relazione dose-risposta /3

Gli effetti delle sostanze tossiche dipendono dai **siti di attacco**, ovvero i siti su cui esse agiscono:

- **Membrane cellulari**
- **Sistemi redox**
- **Sintesi di ATP**
- **Sintesi di macromolecole**
- **Omeostasi del calcio**



Controlli di genotossicità su matrici ambientali /1

- **Test in vitro su batteri luminescenti:** viene misurata la variazione di intensità nell'emissione di luce, che è relazionata al consumo di ATP e quindi al tasso di attività metabolica
- **Test di Ames:** test in vitro di reversione su mutanti istidina-negativi di *Salmonella typhimurium*, che hanno la possibilità di retromutare al ceppo «selvatico» (istidina positivo) originario quando esposti a sostanze chimiche mutagene
- **Test citogenetici** per evidenziare aberrazioni cromosomiche
- Animali e organismi marini sono utilizzati come **bioindicatori**

Controlli di genotossicità su matrici ambientali /2

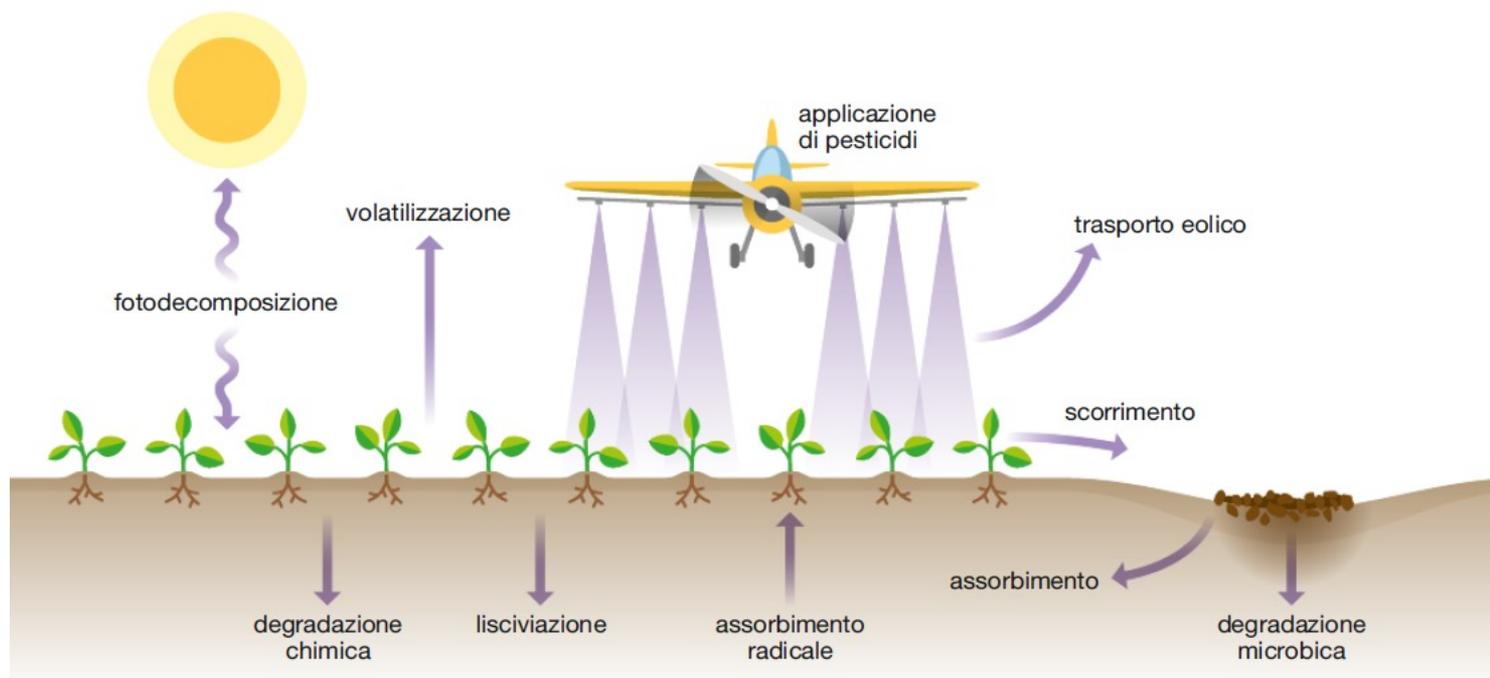
In **aria** vengono esposti agli agenti mutageni organismi sensibili, sia *in situ* sia *in vitro*.

In **ambiente acquatico** si valutano fenomeni di:

- **bioaccumulo:** concentrazione più elevata di un contaminante all'interno dell'organismo rispetto all'ambiente esterno
- **biomagnificazione:** progressivo aumento di concentrazione di un inquinante nei passaggi da un livello della catena alimentare a quello superiore

Controlli di genotossicità su matrici ambientali /3

Nel **suolo** gli inquinanti, organici e inorganici, vengono in parte dilavati, in parte assorbiti dai vegetali, possono subire fotodecomposizione, possono venire degradati per via chimica o dal metabolismo microbico.

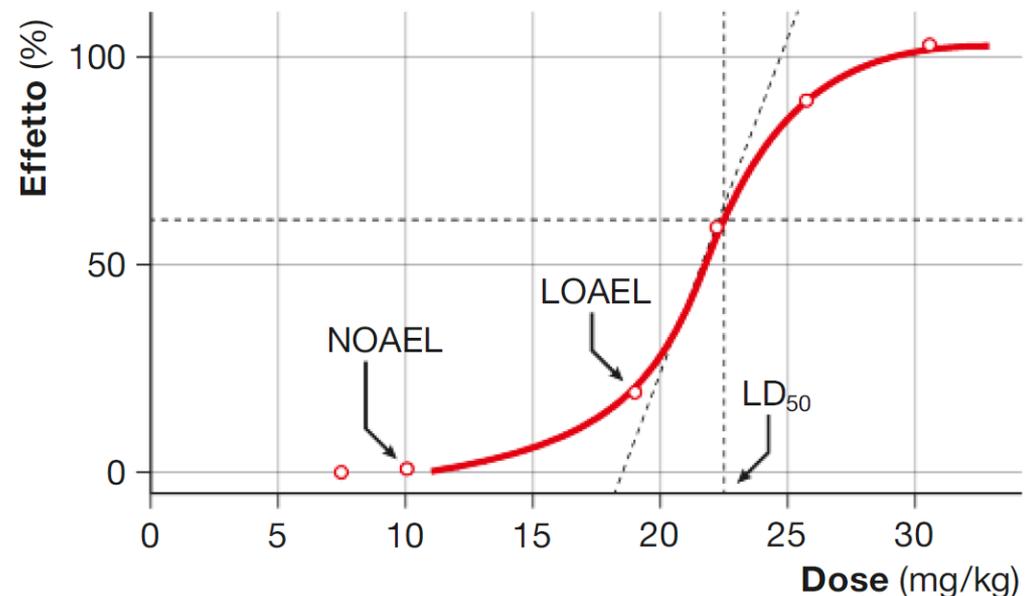


Parametri tossicologici per la valutazione del rischio

NOAEL (*No Observable Adverse Effects Level*): dose più elevata di una sostanza che può essere somministrata senza che si apprezzino evidenti effetti negativi

LOAEL (*Low Observable Adverse Effects Level*): livello più basso di esposizione cui si registrano effetti avversi

LD₅₀ (*lethal dose*): dose della sostanza in grado di uccidere il 50% degli animali a cui è stata somministrata



Il modello a più stadi della cancerogenesi chimica /1

Cancerogenesi chimica: processo per cui fattori di rischio cancerogenetico di tipo chimico provocano la proliferazione incontrollata e disordinata di tessuti neoplastici.

Sono coinvolti due gruppi di geni:

- **Proto-oncogeni:** svolgono funzioni essenziali; in caso di un'espressione difettosa portano a errori nella trasmissione dei segnali di regolazione del ciclo cellulare
- **Geni oncosoppressori:** codificano per proteine che impediscono la proliferazione incontrollata delle cellule; se subiscono mutazioni non possono più esercitare le loro funzioni regolatrici

Il modello a più stadi della cancerogenesi chimica /2

Modello a più stadi della cancerogenesi chimica:

- 1. Iniziazione:** avviene il contatto dell'agente cancerogeno con il DNA, che subisce mutazioni
- 2. Promozione:** si formano popolazioni di cloni cellulari per l'espansione proliferativa di cellule preneoplastiche che portano un'identica mutazione
- 3. Progressione:** danni genotossici che portano a ulteriori mutazioni nelle cellule colpite e all'attivazione dei proto-oncogeni.

Nelle fasi 1 e 2 si passa da una cellula normale a tumore benigno; nella 3 si ha la conversione a tumore maligno.