

Sindromi correlate all'inquinamento indoor negli uffici
Sick Building Syndrome (SBS) - Multiple Chemical Sensitivity (MCS):
modello di Sindrome da esposizione combine tra xenobiotici a basse dosi
ruolo dei polimorfismi genetici degli enzimi metabolici come biomarkers di
suscettibilità

Dott GIACOMO RAO* Dott L. IANNICELLI Dott G. CORTESE*** Dott.S.GIBILISCO******



*Dirigente Medico legale INAIL Roma Laurentino ,Specialista in Malattie dell' Apparato Cardiovascolare
Email g.rao@inail.it giacomorao@alice.it tel 339 8790609 fax 06 23327302

**Dirigente Medico Legale	INAILCaltanissetta	Email	l.iannicelli@inail.it
*** Dirigente Medico legale	INAIL Caltanissetta	Email	g.cortese@inail.it
**** Dirigente Medico legale	INAIL Ragusa	Email	g.gibilisco@inail.it

- **RIASSUNTO.** Viene presentata una rassegna dei dati di letteratura sperimentali e di epidemiologia molecolare sugli effetti dell'esposizione combinata a ozono solventi organici ambientali e PM 2,5 a basse dosi in ambiente indoor negli uffici
- La maggioranza delle ricerche portano alla conclusione che la SBS e MCS abbia una base biochimica molecolare in una alterazione della omeostasi dei sistemi integrativi di comunicazione intercellulare (neuro immuno endocrino): la esposizione continuata e combinata a noxe vocs (solventi organici liposolubili) metalli pesanti (particolati) e ossidanti (ozono) nella maggior parte della popolazioni determina una reazione immuno-infiammatoria induzione dell'espressione genica degli enzimi e dei sistemi detossicanti e ABC proteine di trasporto rimuovendo gli xenobiotici si hanno sintomi sub clinici reversibili .
- In altri soggetti suscettibili per particolari polimorfismi del DNA degli enzimi detossicanti (fase I fase II ABC proteina enzimi antiossidanti) enzimi riparatori del DNA mitocondriale e nucleare si può' avere una disregolazione della tolleranza immunitaria mediata dal aryl hydrocarbon receptor e quindi cronicizzazione e l'evoluzione fino all' irreversibilit  della sindrome con conseguenze gravi e deficit multiorgani

- **ABSTRACT.** This article presents a review of the data of literature reported experimental data and of molecular epidemiology on combined effects of exposure to ozone organic solvents environmental and PM 2, 5 a low dose in indoor environment in the offices
- The majority of research leading to the conclusion that SBS and MCS has a basic molecular biochemistry in a continuing perturbation Homeostatic Control Systems of intercellular communication (immune neuro endocrine): the continued exposure and combined with lipophilic organic solvent (volatile organic compounds) heavy metals (particulates) and oxidizing agent (ozone) in most of populations leads to immune/inflammatory reaction , Induction of gene expression of xenobiotic metabolism enzymes and ABC-transport proteins : the homeostatic systems work to remove xenobiotic
In other entities subject with particular DNA polymorphisms of detoxifying enzymes , of phase I, phase II,ABC-transport proteins antioxidant enzymes and DNA repair enzymes may have susceptibility to altering immune tolerance e autoimmune disorders ; data suggest that AhR may play an important role in the function of immune system leading to chronic and with serious consequences and functional disorders involving multiple organ dysfunction syndrome

INTRODUZIONE

- Mentre è chiara la consapevolezza del rischio per la salute determinato dall'inquinamento atmosferico, è difficile accettare che l'aria contenuta nelle abitazioni o nei luoghi di lavoro non industriali possa costituire un reale rischio per l'integrità fisica delle persone. La qualità dell'aria interna, e i suoi riflessi sulla salute dei lavoratori di ufficio sono spesso trascurati, nonostante si trascorra dall'80 al 90% del tempo all'interno degli edifici.
- Il problema dell'inquinamento indoor è un fenomeno antico. Si pensi ad esempio alla morte improvvisa che incontravano alcuni profanatori di tombe, non era da attribuire ad una maledizione, bensì a sostanze che si sono accumulate nel corso dei millenni in ambienti chiusi ed ermetici come le tombe.
- Trattasi di una problematica molto vasta da tempo all'attenzione della scienza bio- medica; già nel 1987 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha riconosciuto e definito la *Sick Building Syndrom* (Sindrome dell'edificio malato – SBS)
- la MCS è stata studiata dalla EPA- Environmental Protection Agency), riconosciuta dalle leggi per la disabilità (ADA - American Disability Act) e dal Dipartimento dello Sviluppo Urbano e dell'Abitazione. C'è una costante attenzione da parte di Agenzie ed Enti governativi federali statunitensi a dimostrazione che la MCS è una malattia in costante aumento, in Canada ove è riconosciuta, in Germania la MCS è stata inclusa nella Classificazione Internazionale delle Malattie dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), ICI-10, sotto il codice T 78.4, "allergia non specificata".

Dimensione del problema

- In un recente studio l'Accademia Nazionale delle Scienze Americana ha stimato in 37 milioni di statunitensi i malati di Sindrome MCS
- La SBS definibile come complesso di sintomi di malessere generale, non specifici ma ripetitivi, lamentati dagli occupanti di particolari fabbricati (con ambienti sigillati e dotati di impianti per il condizionamento dell'aria) che spariscono allontanandosi dagli edifici. rappresenterebbe lo stadio 1 della MCS (STADIO della SENSIBILIZZAZIONE) o fase irritante, che si verifica quando una persona è sottoposta ad una esposizione chimica una esposizione cronica insidiosa. I sintomi dei pazienti in seguito all'esposizione chimica, non sono rilevabili clinicamente :i disturbi possono includere dolore alle articolazioni e ai muscoli, cefalea, affaticamento (stanchezza cronica), rossore, prurito, nausea, tachicardia, asma.
- Un recente studio epidemiologico su 1016 lavoratori di ufficio ha evidenziato una correlazione positiva tra esposizione a carbonless copy paper , paper dust, a vocs emessi da fotocopiatrici e stampanti e Sick building Syndrome ([Jaakkola MS Yang L Jeromnimon A Jaakkola JJ](#) *Office work exposures and respiratory and sick building syndrome symptoms Occup Environ Med. 2007, Mar.*
- *Una ricerca australiana*, Environ. Sci. Technol, 2007. Particle Emission Characteristics of Office Printers Congrong He, Lidia Morawska, and Len Taplin ha messo in evidenza che l'aria degli uffici è cinque volte più contaminata di quella esterna
- uno studio di [Caress SM](#), [Steinemann AC](#). Am J Public Health. 2004 e il California Department of Health Services prospettano una prevalenza negli USA del 15%

CORRELAZIONE TRA SBS E MCS

- Partendo dall'osservazione e dalla analisi di dati di epidemiologia molecolare, dati sperimentali in vivo e in vitro vi è una chiara evidenza (ipotesi da verificare con ulteriori studi sperimentali) che negli uffici si creerebbe una interazione tra ozono vocs (stirene, toluene, formaldeide) e PM 1- 2,5 che in maniera sinergica con formazioni sostanze reattive secondarie determinano un alto potenziale ossidativo
- Tale potenziale ossidativo reagisce con materiale presente nell'ambiente (pareti mobili, materiale cartaceo, plastica,) accelerandone la degradazione (ingiallimento del materiale cartaceo degli archivi e ulteriore emissione di vocs secondari piu' reattivi)

CORRELAZIONE TRA SBS E MCS

- Tali sostanze determinano uno stress ossidativo a livello neuronale e immunitario innescando una reazione immuno- infiammatoria sub clinica che si traduce in termini clinici in una serie di sintomi aspecifici: irritazione degli occhi, delle vie aeree e della cute, tosse, senso di costrizione toracica, sensazioni olfattive sgradevoli, nausea, torpore, sonnolenza, cefalea, astenia.
- I sintomi si manifestano in una elevata percentuale di soggetti che lavorano in ufficio (in genere superiore al 20%), scompaiono o si attenuano dopo diverse ore dopo (da poche ore a 2 -3 giorni) dall'abbandono dell'edificio

CORRELAZIONE TRA SBS E MCS

- In pochi casi particolarmente suscettibili con particolari polimorfismi genetici del sistema antiossidante ,detossicante , e degli enzimi di riparazione del dna (anche con il contributo dell'inquinamento outdoor) persistendo la reazione immuno-infiammatoria si puo' avere l'evoluzione verso una patologia multisistemica caratterizzata da reazioni di intolleranza dell'organismo ad agenti chimici ed ambientali presenti singolarmente o in combinazione, a concentrazioni generalmente tollerate dalla maggioranza dei soggetti ***Idiopathic Environmental Intolerance – multiple chemical syndrome*** (stadio 2 e 3)
- STADIO 2 – INFIAMMAZIONE: l'esposizione chimica determina una reazione infiammatoria cronica nei vari tessuti con varie espressioni cliniche : artrite, vasculiti, dermatiti, asma non allergico, coliti, miositi, tale fase potrebbe essere reversibile con
- l' evitamento chimico e specifiche cure che favoriscono il sistema di detossificazione
- STADIO 3 – DETERIORAMENTO: l'infiammazione cronica causata dall'esposizione chimica produce danni del tessuto, come lesioni al sistema nervoso centrale, al rene, al fegato, al polmone, al sistema immune . Questo livello è irreversibile: le funzione dell'organo compromesse possono sfociare in quadri clinici gravi : lupus, ischemie, cancro, autoimmunità, sclerosi multipla, porfiria

FONTI DI OZONO VOCS PM 2,5

- **OZONO**

Negli ambienti interni l'ozono può essere prodotto in apparecchiature che generano forti campi elettrici o che utilizzano le lampade con luce ultravioletta (per es. fotocopiatrici stampanti laser).

VOCs

- Con il termine generico di **Composti Organici Volatili (VOC)** viene indicato un insieme di SOLVENTI ORGANICI “volatili” proprio la capacità di evaporare facilmente a temperatura ambiente. Nell’aria interna ne sono stati identificati oltre 300 con concentrazioni totali (VOCs) da 2 a 10 volte più elevate di quelle dell’aria esterna
- In base alla composizione chimica distinguiamo gli idrocarburi alifatici : saturi alcani o paraffine ,alcheni o olefine (n-esano, n-esadecano e i metilesani), i terpeni,alogenati (trielina);li idrocarburi aromatici, (**benzene** e derivati, toluene, o-xilene, **stirene**), gli idrocarburi aromatici alogenati (PCB , clorobenzeni, diossina ecc.), gli alcoli (etanolo, propanolo, butanolo e derivati), gli esteri, i chetoni, e le aldeidi (tra cui la **formaldeide**).
- Ci occuperemo solo di alcuni composti che comunemente si riscontrano negli ambienti chiusi e/o che sono particolarmente importanti per la tossicità intrinseca: *Toluene* (o toluolo) fa parte del gruppo degli idrocarburi aromatici ed è uno dei solventi più tossici e che si riscontra più frequentemente. Il toluene è emesso da pitture fresche, vernici, inchiostri, detergenti, colle, lacche, rivestimenti .*Il benzene* è il punto di partenza di una molteplicità di prodotti: é usato per pitture e lacche, per la sintesi di stirene e fenolo, per la manifattura di materiali plastici e detergenti, nella fabbricazione di pesticidi
- **Formaldeide** è un composto organico volatile che viene utilizzato in numerosi prodotti di uso corrente: vernici, lacche, colle, schiume isolanti, inchiostri, resine,pesticidi, Materiali degradati ,possono anche emettere della formaldeide. Legno compensato legato con resina sintetica (utilizzato per i mobili o come materiale da costruzione), Schiume isolanti (a base di urea-formaldeide) iniettate nei muri e nelle pareti divisorie.
- Stirene presente nel toner
- In ambiente indoor emissione di vocs e SVOC (semivolatili) provengono da fotocopiatrici stampanti ,colle e di pavimenti di PVC, moquet , linoleum, intonaci gli svocs potrebbero essere assorbiti dalle polveri (**Wilke O Indoor Air. 2004**)

PM (Particulate Matter)

- Particolato Aerodisperso (PM, *Particulate Matter*) è costituito da un insieme di particelle molto piccole (aerosol) presenti nell'atmosfera. che a causa della loro forma e bassa densità restano sospese in aria”
- Il particolato viene generalmente classificato a seconda del diametro aerodinamico degli inquinanti in:
- Ultrafine (PM_{0,1}), con diametro <0,1 µm;(100nm)
- Fine particelle (PM_{2,5}), con diametro fino a 2,5 µm;
- Polveri più grandi (PM₁₀), con diametro fino a 10 µm.
- Nanoparticelle (50 nm)
- In generale le polveri grossolane derivano dall'aggregazione di polveri fini depositate sulle superfici e risospese dalle correnti d'aria
- La composizione chimica delle particelle è estremamente variabile :a) Metalli (piombo, nichel, zinco, rame, cadmio);b) Fibre;c) Solfati, nitrati, idrocarburi policiclici, polvere di carbone e cemento, n-alcani, acidi grassi (palmitico e stearico), esteri di ftalati. Particolato diesel

Particolato Aerodisperso

- Le principali sorgenti di particolato negli ambienti confinati sono derivati da [apparat](#)di combustione , il [fumo di tabacco](#), interazioni chimiche tra ozono e vocs ,toner. Le macchine fotocopiatrici, costituiscono una fonte di particelle inalabili a causa dell'emissione di polvere di toner contenente il nero carbone (carbon black o nerofumo) come pigmento e una resina che consente al nero carbone di aderire sul foglio , sono presenti ossidi metallici come , ossido di ferro, ossido di rame, ossido di nickel, e diossido di titanio. la dimensione delle particelle di toner è al di sotto dei dieci micron (da 2 a 10 Micron)
- Composizione del toner (OSHA) :Ossido di ferro 45% ,Silice 3% Styrene-Acrylate Copolymer 48% ,Polipropilene 4% Cobalto-Nickel-Nitropyren-benzolo-fenolo ,nerofumo La IARC lo considera nel gruppo 2B. un materiale composto di carbone polverizzato prodotto da una pirolisi controllata di idrocarburi ([Micron](#). 2006 Chemical component mapping of pulverized toner by scanning transmission X-ray microscopy. [Iwata N](#) *Environ. Sci. Technol*, 2007. Particle Emission Characteristics of Office Printers Congrong He, Lidia Morawska, and Len Taplin *Australia* .[Tuomi T](#), [Engström B](#), [Niemelä R](#), Emission of ozone and organic volatiles from a selection of lasers printers and photocopiers. Indoor Air and Environment Program, Finnish Institute of Occupational Health (FIOH), Helsinki, Finland. [Indoor Air](#).

INTERAZIONI CHIMICHE TRA OZONO VOC E PM 2,5

- La dinamica dei VOC in un ambiente è molto complessa, in quanto possono essere adsorbiti dalle molte superfici presenti in un locale pareti mobili prodotti per la pulizia ,carta da parati comprese gli archivi cartacei contribuendo alla ossidazione degrado e ulteriore riemissione di vocs ; inoltre danno luogo a reazioni chimiche generando nuovi composti piu reattivi
- Il limonene è un voc insaturo presente nei prodotti per la pulizia , saponi è ossidato dall'ozono a prodotti secondari :aldeidi ,acidi , e PM ultrafini in ratti esposti a questi prodotti si è avuto un incremento di TNF-alpha, cyclooxygenase-2 e superoxide dismutase nei macrofagi alveolari (AM) e Type II cells. ([Sunil VR](#), [Laumbach RJ](#) Toxicol Appl Pharmacol. 2007 Jul Pulmonary effects of inhaled limonene ozone reaction products in elderly rats.)

INTERAZIONI CHIMICHE TRA OZONO VOC E PM 2,5

- L' Ozono O₃ è una forma allotropica dell'ossigeno si forma per azione delle cariche elettriche o dei raggi ultravioletti sull'ossigeno biatomico O₂
- A causa del suo elevato potere ossidante reagisce con diverse sostanze chimiche organiche provoca ingiallimento degrado del materiale cartaceo
- alcuni esperimenti dimostrano che l'ozono determina emissione secondaria di aldeidi dai tappeti e carta da parati : dopo tre ore di esposizione a ozono si ha una emissione di formaldeide e altri aldeidi come prodotto di reazione ozono- superficie tappeti moquette carta stampata
- lo studio delle interazioni chimiche delle sostanze inquinanti indoor ha dimostrato che la reazione ozono/terpene dell'ozono con materiali presenti in ambiente indoor tappeti pitture truciolati materiale cartaceo porta a prodotti più reattivi : perossido di idrogeno, radicale idrossilico, particolato fine e ultrafine ,acido nitroso , aldeidi ([Weschler CJ](#) ScientificWorldJournal. **Reactions among indoor pollutants** ScientificWorldJournal. 2001)

INTERAZIONI CHIMICHE TRA OZONO VOC E PM 2,5

- L'emivita dell'ozono di norma è di 7-10 minuti, la reazione con i VOC indoor è termodinamicamente favorevole ma lenta, diventa molto veloce grazie alle alte temperature che si raggiungono nel processo di stampa e nei casi di reazione con composti con legami insaturi carbonio-carbonio determinando radicali liberi e composti con gruppi funzionali (-C=O, -COOH, -OH) responsabili dell'odore caratteristico degli archivi cartacei. L'O₃ reagendo con idrocarburi insaturi (terpene) genera OH che a sua volta è causa della formazione di formaldeide e tolualdeide, questi composti che si presentano come VOCs o si condensano insieme con altre sostanze in particolato submicrometrico ([Weschler CJ](#) *Indoor Air*. 2000; [Fan Z, Liou P](#) *Environ Sci Technol*. 2003 May; *Ozone-initiated reactions with mixtures of volatile organic compounds under simulated indoor conditions*. [Docherty KS, Wu W, Lim YB, Ziemann PJ](#) *Environ Sci Technol*. 2005 Jul; *Contributions of organic peroxides to secondary aerosol formed from reactions of monoterpenes with O₃*)
- uno studio condotto su topi è stato evidenziato come il limonene reagisce e viene ossidato dall'ozono per dare aldeidi, acidi altamente irritanti per il sistema respiratorio, si evidenzia una reazione infiammatoria a livello alveolare polmonare ([Rohr AC](#) *Airway And Pulmonary Effects Of Terpene/ Ozone Reaction Products In Mice*. *Toxicologist* 2004 Mar)

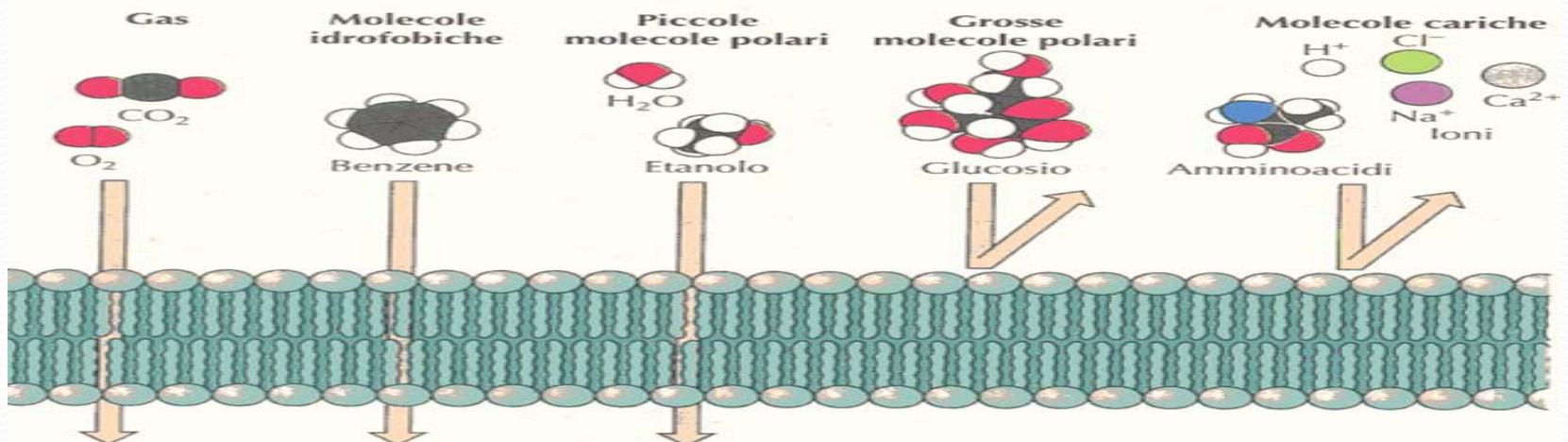
INTERAZIONI CHIMICHE TRA OZONO VOC E PM 2,5

- in sintesi si realizzerebbero nell'indoor condizioni per l'innesco di un processo di smog fotochimico (simile a quello dell'outdoor) , un ruolo centrale ha la formazione di radicale idrossilico (OH) essendo presenti ossigeno molecolare , ossidi di azoto e composti organici volatili (toner) luce UV , temperatura elevata (stampanti fotocopiatrici) ([Weschler CJ Indoor Air. 2004](#); [Li TH Turpin BJ Shields HC Weschler CJ indoor hydrogen peroxide derived from ozone/d-limonene reactions Environ Sci Technol. 2002](#) ; [Wang HMorrison GC Ozone-initiated secondary emission rates of aldehydes from indoor surfaces in four homes. Environ Sci Technol. 2006](#))

TOSSICOCINETICA

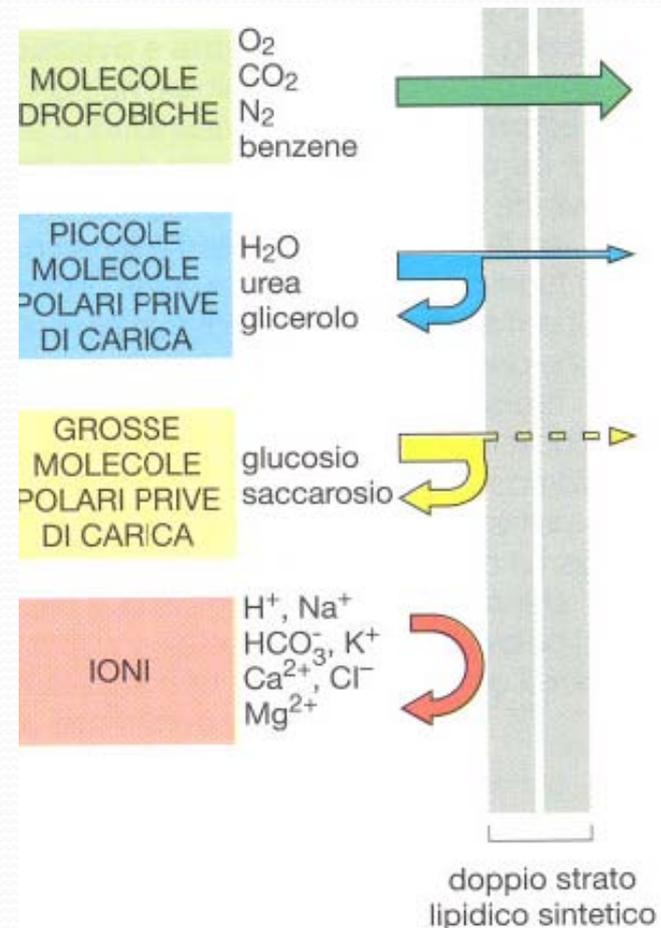
ASSORBIMENTO

- Ricordiamo che molte delle sostanze fondamentali per la cellula non passano facilmente attraverso la membrana cellulare e possono entrare nella cellula solo in virtù di proteine trasportatrici. Ioni e soluti polari sono virtualmente impermeabili ed il loro trasporto avviene grazie alla presenza di proteine transmembratiche che fungono da trasportatori
- Le molecole idrofobiche (O_2 , N_2 , CO_2), piccole molecole organiche e l'acqua
- esibiscono un'elevata permeabilità i vocs attraversano attraverso la membrana cellulare per diffusione passiva per gradiente di concentrazione.
- Queste sostanze hanno uno spiccato tropismo per i tessuti e organi ricchi in
- lipidi. Quindi le principali azioni dannose le avremo a livello del SNC e del SNP.



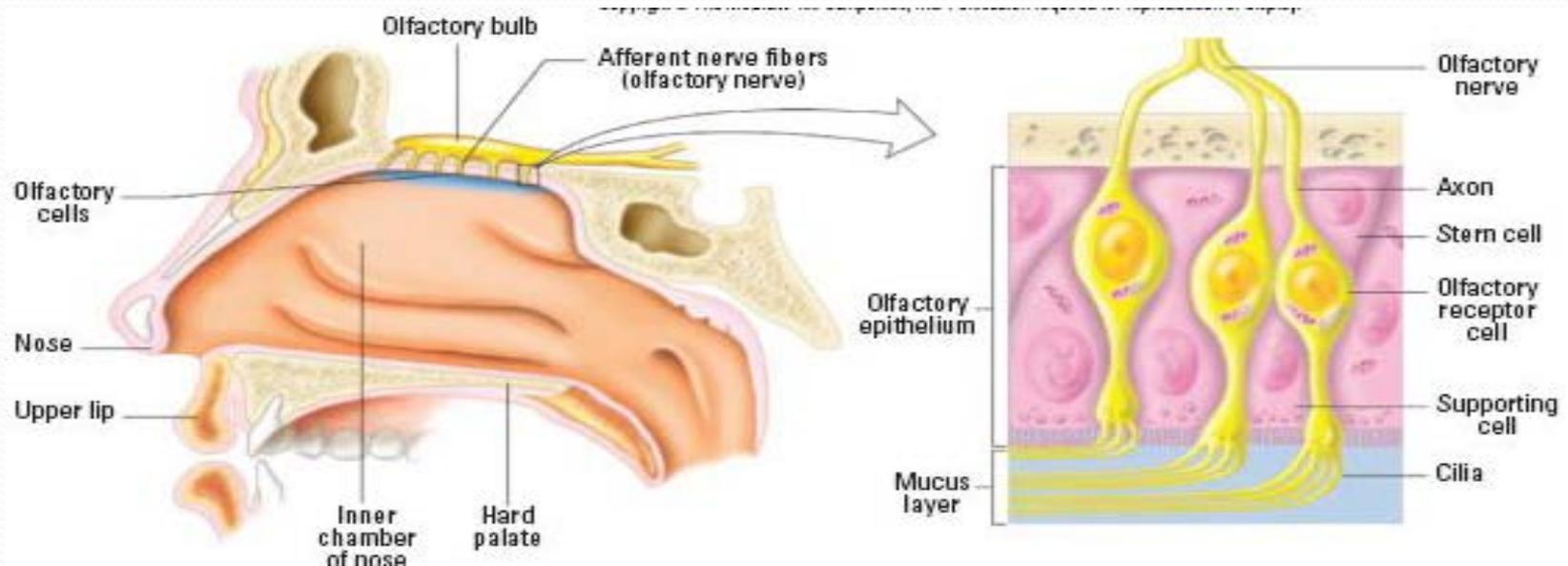
ASSORBIMENTO

- L' ASSORBIMENTO dell'ozono, stirene e aldeidi si ha per via respiratoria. Questo primo passaggio avviene come trasporto passivo attraverso la barriera alveolo capillare per l'esistenza di un gradiente di concentrazione positivo fra ambiente e organismo. I solventi organici sono molecole liposolubili



assorbimento per via nasale

- Studi hanno mostrato che, nei roditori, diversi xenobiotici ,metalli ,nanoparticelle possono spostarsi attraverso il naso direttamente nel cervello, passando solo una o due sinapsi. *Comparative Nasal Structure, Function And Toxicology: Implications For The Risk Of Direct Transport Of Inhaled Xenobiotics To The Brain. Harkema JR Toxicol Sci 2006)*
- Dal punto di vista evolutivo, l'olfatto è considerato il più antico dei cinque sensi l'elaborazione degli stimoli olfattivi avviene nelle stesse aree cerebrali che presiedono alle emozioni ed alla memoria



assorbimento per via nasale

- I neuroni potrebbero costituire una via con il quale xenobiotici possono raggiungere il cervello : nei roditori dopo inalazione di polveri o fumi metallici contenente cobalto si è visto un accumulo di metallo nel bulbo olfattivo e una piccola parte nella corteccia olfattoria

(A. Peters B Veronesi translocation and potential neurological effect of fine e ultrafine particles ;

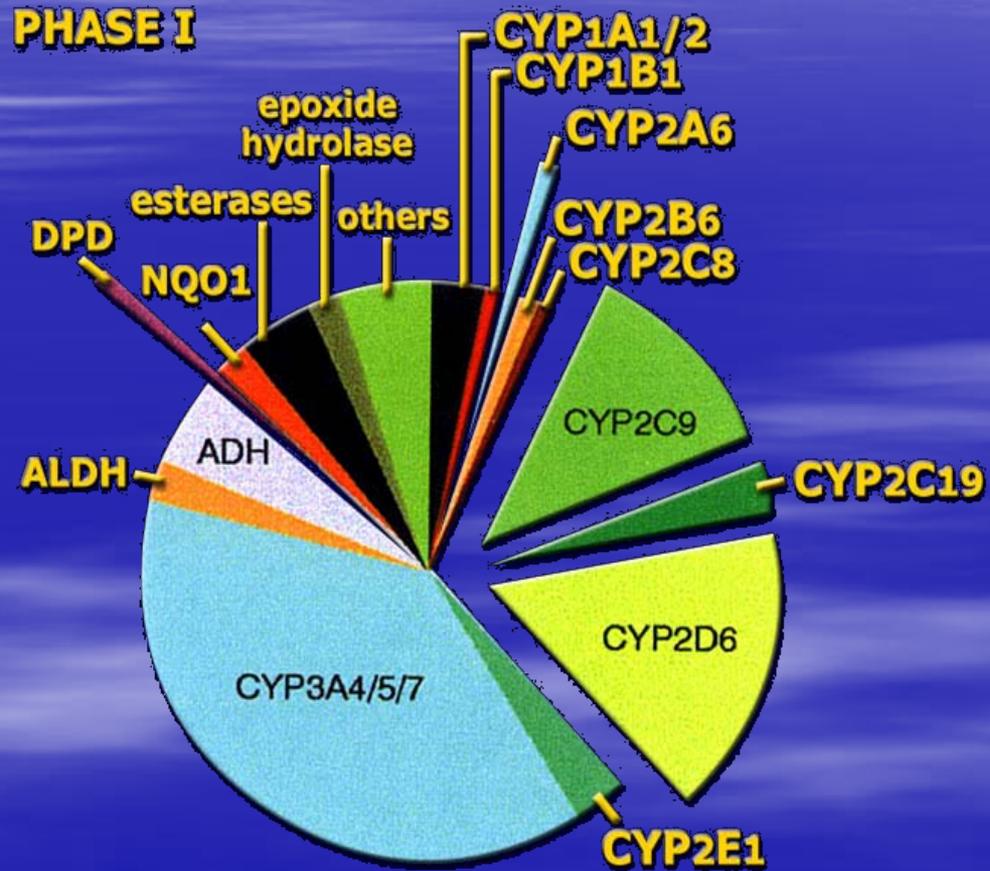
Ghantous H Dencker L Gabrielsson J Danielsson BRG Bergman K Accumulation and Turnover of Metabolites of Toluene and Xylene in Nasal Mucosa and Olfactory Bulb in the Mouse Pharmacology and Toxicology, 1990 ;

Henriksson J Tjalve H uptake of cobalt from the nasal mucosa into the brain via olfactory pathways in rats Toxicol Lett. 2003)

DISTRIBUZIONE METABOLISMO ELIMINAZIONE

- Il metabolismo ha una 'logica': trasformare la molecola in modo che possa essere facilmente escreta per via renale o biliare. Dato che le molecole idrofile sono eliminate più rapidamente di quelle lipofile, il metabolismo consiste principalmente nella trasformazione di molecole lipofile in molecole idrofile.
- Le trasformazioni subite da uno xenobiotico da parte degli enzimi metabolizzanti sono suddivise in reazioni di fase I e reazioni di fase II.
- Le reazioni di fase I portano in genere all'introduzione nella molecola di gruppi funzionali come -OH, -NH₂, -COOH (reazioni di funzionalizzazione).
- Nelle reazioni fase II, molecole endogene fortemente polari (es. acido glucuronico) vengono legate ai gruppi funzionali inseriti durante la fase I (reazioni di coniugazione).
- Le sostanze lipofile sono escrete più lentamente di quelle idrofile perché:
 - sono più facilmente riassorbite nel tubulo renale (o nell'intestino in caso di eliminazione biliare); si accumulano nel tessuto adiposo
 -

REAZIONE DELLA FASE 1



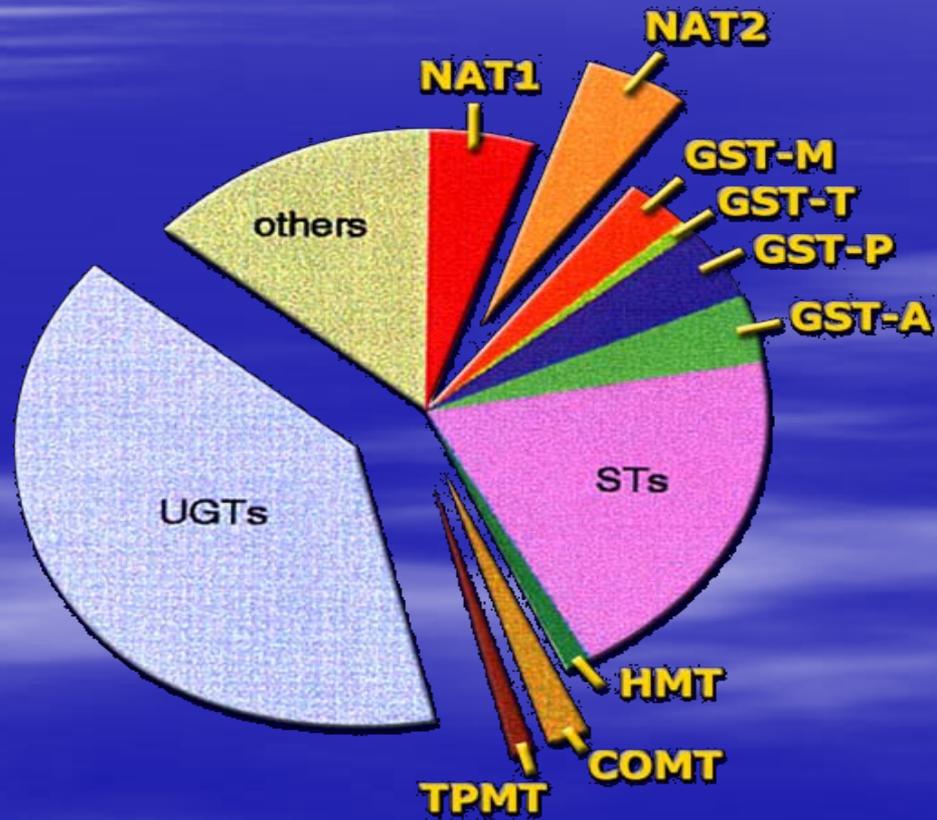
REAZIONE DELLA FASE 1

Le reazioni di fase I determinano in genere perdita dell'attività farmacotossicologica (modificazione della struttura chimica e della capacità di interagire con il recettore). In alcuni casi, tuttavia, i prodotti delle reazioni di fase I sono biologicamente attivi. I pro-farmaci sono attivati dalle reazioni di fase I. Nelle reazioni di fase I, soprattutto le reazioni di ossidazione, si possono formare metaboliti tossici.

Nell'uomo, esistono almeno 18 isoenzimi CYP₄₅₀, che differiscono, parzialmente, per specificità, induttori, inibitori.

REAZIONE DELLA FASE 2

PHASE II



REAZIONI DELLA FASE 2

Le reazioni di coniugazione: glucuronidazione, solfatazione, acetilazione metilazione coniugazione con glutatione ,coniugazione con aminoacidi (glicina, taurina, acido glutammico)

Enzimi: N-acetyltransferase 2, glutatione S-transferase M₁, glutatione S-transferase T₁

A titolo esemplificativo lo stirene viene ossidato styrene 7-8 oxide dal citocromo p450 monoossigenasi questo intermedio è metabolizzato dall' epossido idrolisi (EH) e glutatione S-transferasi(GST) nel fegato , nel polmone se persiste l'esposizione si ha una deplezione di GSH e formazione di addotti di emoglobina e dna nei linfociti .Dopo 6 ore di esposizione a soli 20 ppm nei topi si ha una deplezione di GSH del 40% ([Csanády GA](#), [Kessler WA](#) toxicokinetic model for styrene and its metabolite styrene-7,8-oxide in mouse, rat and human with special emphasis on the lung.)

ELIMINAZIONE

Nel sistema detossicante degli xenobiotici lipofili ha un ruolo importante la GLICOPROTEINA -P (ABCB1 o MDR1) TRASPORTATORE DI MEMBRANA , CARRIER DI EFFLUSSO Il suo nome (multidrug resistance protein) deriva dal fatto di essere stata per la prima volta individuata in cellule tumorali, alle quali conferisce resistenza nei riguardi di farmaci antineoplastici

La glicoproteina P è localizzata nella membrana apicale delle cellule dei tessuti con funzione di barriera (intestino, barriera ematoencefalica, placenta, barriera ematotesticolare), degli organi emuntori (fegato e rene) e in alcuni tipi di linfociti CD4+.

La glicoproteina P è una flippasi, cioè fa passare la molecola dal foglietto fosfolipidico interno a quello esterno, favorendone così l'estrusione. Essa non trasporta sostanze endogene, ma solo xenobiotici caratterizzati da: struttura planare, peso molecolare maggiore di circa 500 Dalton, idrofobicità o anfipaticità, carica positiva, dovuta ad un azoto basico, o neutra.

Il gene ABCB1 è altamente **polimorfico** e le sue numerose varianti potrebbero avere una funzione di trasporto significativamente ridotta. Tra queste, la variante più comune è determinata da una mutazione (3435C>T) nell'esone 26. In pazienti con l'allele 3435T, la P-glicoproteina presenta un'alterata funzione di trasporto rispetto a quella espressa in soggetti con l'allele 3435C.

Sono stati identificati almeno 16 polimorfismi a livello di singolo nucleotide, la maggior parte dei quali sono intronici o comunque silenti. È assai probabile, che variazioni nell'espressione della glicoproteina P, derivate dal polimorfismo genetico, siano fonti di variabilità interindividuale nei meccanismi protettivo contro la tossicità degli xenobiotici.

MECCANISMI MOLECOLARI FISIO-PATOGENETICI

• DATI SPERIMENTALI

STUDI IN VITRO E IN VIVO

- Uno studio in vitro sulla catena respiratoria di mitocondri isolati di fegato di ratto ,sul potenziale di membrana, rilascio di Ca²⁺, livelli di ros e ATP ha evidenziato che il meccanismo di danno dei solventi è da correlare a deplezione di ATP aumento di ROS (Revilla AS Pestana CR Pardo-Andreu GL Santos AC Uyemura SA Gonzales ME Curti C *Potential toxicity of toluene and xylene evoked by mitochondrial uncoupling. Toxicol In Vitro. 2007.*)
- Esaminando la citotossicità del methyl vinyl ketone (MVK) in colture cellulari neuroni ipotalamici (murine GT1-7) si è evidenziato una deplezione di glutathione seguito da aumento di ROS e in ultimo disfunzione mitocondriale (Sathishkumar K, Rangan V, Gao X Free Radic Res. 2007 Apr; *Methyl vinyl ketone induces apoptosis in murine GT1-7 hypothalamic neurons through glutathione depletion and the generation of reactive oxygen species.*)

DATI SPERIMENTALI STUDI IN VITRO E IN VIVO

- altri studi in vitro mostrano un ruolo dei ROS nella patogenesi della sostanza B amiloide nell'alzheimer e un ruolo protettivo del NAC e Tocoferolo ([Sathishkumar K, Xi X, Martin R, Uppu RM](#). *Cholesterol secoaldehyde, an ozonation product of cholesterol, induces amyloid aggregation and apoptosis in murine GT1-7 hypothalamic neurons.* *J Alzheimers Dis.* 2007)
- Un interessante studio in vitro ha investigato gli effetti in vitro di una sub-cronica esposizione di solventi organici VOCs (toluene exano metiletiketone)a livelli inferiore ai valori TLVs i risultati dimostrano un danno di membrana ,aumento intracellulare di calcio libero alterazione del glutatione redox. la tossicità del sovente organico aumenta in proporzione all'idrofobicità ([Catherine McDermott, Ashley Allshire](#) *Sub-chronic toxicity of low concentrations of industrial volatile organic pollutants in vitro* *Toxicology and Applied Pharmacology* February 2007)
- In ratti esposti a inalazione in camera controllata a formaldeide a tre diverse concentrazioni (0,5 5 10 ppm) per due settimane per 6 ore al giorno e 5 giorni a settimana fu riscontrato aumento della perossidazione lipidica tramite la Malondialdehyde , ossidazione proteica e danno del DNA nel fegato e linfociti ([Im H](#), *J Proteome Res.* 2006)

DATI SPERIMENTALI STUDI IN VITRO E IN VIVO

- La molecola dell'**ozono** è estremamente reattiva, in grado di ossidare numerosi componenti cellulari, fra i quali amminoacidi, proteine e lipidi. I soggetti più sensibili, come gli asmatici e gli anziani possono essere soggetti ad attacchi di asma anche a basse concentrazioni. Alla concentrazione di 1 ppm provoca mal di testa e a 1,7 ppm può produrre edema polmonare. Numerosi casi di gravi intossicazioni da ozono sono state riferite per i lavoratori addetti alle saldature, in quanto vi è un maggior irraggiamento di radiazioni UV nell'ambiente e, di conseguenza, una formazione di ozono in loco.
- In soggetti sensibili l'inalazione di O₃ determina nel condensato espirato exhaled breath condensates (EBCs) un aumento di markers infiammatori (PGE₂), leukotriene B₄ (LTB₄), 8-isoprostane, e (NO) (*Alfaro MF, Walby WF Exp Lung Res. 2007 Breath condensate levels of 8-isoprostane and leukotriene B4 after ozone inhalation are greater in sensitive versus nonsensitive subjects.*)

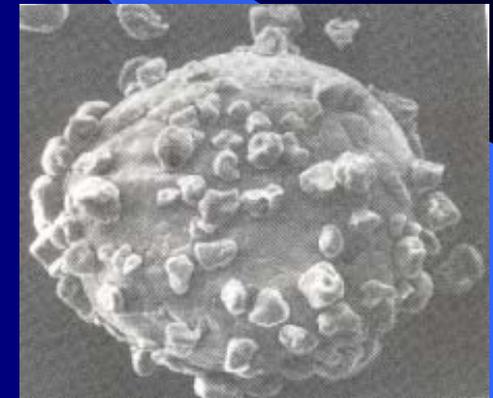
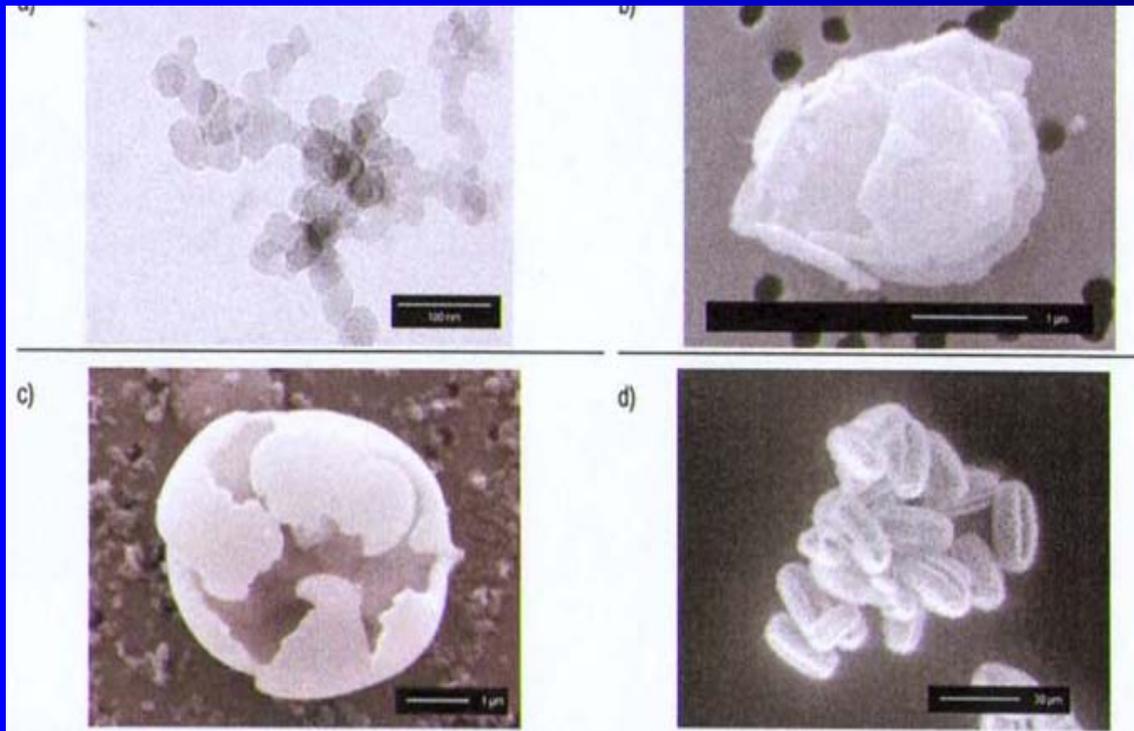
DATI SPERIMENTALI STUDI IN VITRO E IN VIVO

- **Particolato:** numerosi **metalli pesanti** hanno elevata affinità per i gruppi tiolici, amminici, fosforici e carbossilici (Nella letteratura scientifica vengono considerati metalli pesanti i seguenti elementi: Alluminio, Ferro, Argento, Bario, Berillio, Cadmio, Cobalto, Cromo, Manganese, Mercurio, Molibdeno, Nichel, Piombo, Rame, Stagno, Titanio, Tallio, Vanadio, Zinco ed alcuni metalloidi con proprietà simili a quelle dei metalli pesanti, quali Arsenico, Bismuto e Selenio.)
- Il particolato ultrafine e le nanoparticelle traslocano in differenti compartimenti biologici alcune nanoparticelle possono arrivare al cervello
- L'istillazione intranasale di ultrafine carbon black determina nel cervello, bulbo olfattivo di ratti una induzione di citochine, chemochine proinfiammatorie (IL 1B TNF alfa, fattori chemiotassi, inducenti interferone gamma) e una modulazione di neurotrasmettitori
(Tin-Tin-Win-Shwe, Shoji Yamamoto, Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black Toxicology Letters, May 2006)
Tin-Tin-Win-Shwe, Dai Mitsushima, Shoji Yamamoto Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure Toxicology and Applied Pharmacology, September 2007
Sharma HS Sharma A Nanoparticles aggravate heat stress induced cognitive deficits, blood-brain barrier disruption, edema formation and brain pathology. Prog Brain Res. 2007)

Particolato

Le polveri di dimensioni inferiori ai $2.5\ \mu\text{m}$ arrivano quasi tutte negli alveoli mentre quelle con diametro aerodinamico superiore ai $10\ \mu\text{m}$ sono filtrate dalle mucose nasali. Studi in vitro dimostrano secrezione di citochine IL-6 and IL-8 in human lung cells (BEAS-2B) trattati con particelle micrometriche o nanoparticelle di ossidi metallici e pm 2,5 ambientali. *Part Fibre Toxicol.* 2007 **Veranth JM**)

Studi in vitro hanno dimostrato che colture cellulari pneumociti macrofagi in risposta a molti tipi di pm diverse secernono citochine proinfiammatorie IL 6 (**Veranth JM** *Toxicol In Vitro.* 2008)



DATI SPERIMENTALI STUDI IN VITRO E IN VIVO Effetti Neurologici

- In Cellule mononucleate umane incubate con styrene-7.8-oxide si è studiato la secrezione di T(H1)-cytokines IFNgamma e IL-12 T(H2)-cytokines IL-4 e IL-5T i risultati rilevano una secrezione di T(H1)-citokine IFNgamma and IL-12 concludendo che styrene-7.8-oxide ha effetti immunosotossici (*Toxicol Lett.* 2006 **Merker GH**)
- in una coltura cellulare neuronale (SK-N-MC) esposta a stirene e 7,8-ossido (SO), 0.3 e 1mM per 16 ore. Il trattamento con SO provoca un significativo aumento della perossidazione lipidica associato all'incremento dei livelli di ossidazione del DNA e delle proteine. Inoltre l'esposizione a SO determina la diminuzione dell'attività della GST, il calo di GSH (solo alla concentrazione più alta) e l'incremento dell'attività dell'HO-1. (A. Caglieri², M.V. Vettori *Ital Med Lav Erg* 2004)
- Quattro gruppi di topi vennero esposti a o basso medio alto concentrazione di VOCs per 2 ore al giorno per 30 giorni e fu rilevato il contenuto di neurotrasmettitori risultava diminuzione di Glu e ASP , GABA e GLy erano aumentati.
- Il deficit della memoria associata a vocs potrebbe essere correlato a cambiamenti dei neurotrasmettitori

DATI SPERIMENTALI STUDI IN-VITRO E IN VIVO EFFETTI NEUROLOGICI

- Recenti studi suggeriscono che le “polluzioni” (Ozono e particolato) inalate producono fattori vasoattivi come endothelin (ET) e nitric oxide NO nel cervello ([Thomson EM, Kumarathasan P](#) *Environ Res.* 2007 Oct *Air pollution alters brain and pituitary endothelin-1 and inducible nitric oxide synthase gene expression.*)
- Studi indicano che l'esposizione a basse concentrazioni di stirene altera l'attività della MAO B nel cervello dei ratti e nelle piastrine umane ([Coccini T, Randine G, Li B, Manzo L](#) *(Effect of styrene on monoamine oxidase B activity in rat brain. Salvatore Maugeri Foundation, University of Pavia.)*)
- l'esposizione a bassi livelli di formaldeide e toluene aggravano le patologie allergiche respiratorie ([Fujimaki H, Kurokawa Y, Kunugita](#) *Differential immunogenic and neurogenic inflammatory responses in an allergic mouse model exposed to low levels of formaldehyde Toxicology.* 2004
[Tin-Tin-Win- Shwe, Yamamoto S](#) *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007 **modulation of neurological related allergic reaction in mice exposed to low-level toluene.**)

DATI SPERIMENTALI STUDI IN VITRO E IN VIVO EFFETTI NEUROLOGICI

- In vitro il toluene e la formaldeide influenza la neurotransmissione glutaminergica alterando la funzione del N-methyl-D-aspartate (NMDA)-glutamate receptors influenzando i visual-evoked potentials (VEPs) (**Bale AS Jackson MD Krantz QT** *Evaluating the NMDA-glutamate receptor as a site of action for toluene, in vivo. Toxicol Sci. 2007;*
 - **Ahmed S, Tsukahara S**, *J Neuroimmunol. 2007 May Effects of low-level formaldehyde exposure on synaptic plasticity-related gene expression in the hippocampus of immunized mice.*)
- 1. Interessante lo studio in vivo su topi esposto a bassi livelli di toluene** si è osservato che la cronica esposizione a 50 ppm di toluene per 12 settimane causa una significativa disregolazione dei NMDA receptor subunit 2B (NMDA NR2B) associato a induzione di CaMKIV, CREB-1, and FosB/DeltaFosB nell'ippocampo. (**Ahmed S Tin-Tin-Win-Shwe Yamamoto S** *Increased hippocampal mRNA expression of neuronal synaptic plasticity related genes in mice chronically exposed to toluene at a low-level human occupational-exposure. Neurotoxicology. 200*

DATI SPERIMENTALI STUDI IN VITRO E IN VIVO Effetti immunologici

- la stimolazione del recettore aril derivati di idrocarburi (AHR) induce aumento di IL6 in cellule tumorali (*Inflammatory Signaling and Aryl Hydrocarbon Receptor Mediate Synergistic Induction of Interleukin 6 in MCF-7 Cells Molecular Biology, Pathobiology, and Genetics* Brett D. ollingshead, Timothy V. Beischlag)
- **l' attivazione del recettore AHR** , fattore di trascrizione aumenta notevolmente la percentuale di T H 17 e la loro produzione di citochine nei topi il complesso AHR-idrocarburi puo' rappresentare co-fattore nello sviluppo di malattie autoimmuni.([Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, Buer](#) *The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins Nature. 2008* **IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells.** [Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A](#) **Nature. 2007** **Mechanism of interleukin-25 (IL-17E)-induced pulmonary inflammation and airways hyper-reactivity.**[Sharkhuu T, Matthaei KI, Forbes E, Mahalingam](#) **Clin Exp Allergy. 2006)**

STUDI DI EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

- Studi caso-controllo hanno mostrato che alcuni pazienti colpiti da sclerosi multipla erano stati esposti ai solventi organici. In Norvegia sono state esaminate a partire dal 1970 e fino al 1986, 3 coorti composte da : 11.542 imbianchini, 36.899 muratori, 9.314 lavoratori dell'industria alimentare. Il rischio relativo di sclerosi multipla per gli imbianchini rispetto ai lavoratori non esposti ai solventi organici è stato di 2 (0,9-4,5). (Riise T et al, Epidemiology 2002)
- Vi è una evidenza che nei malati di MCS e CFS (**Chronic fatigue** Sindrome) un aumento di NCF sembra probabile che tale aumento è determinato da uno stimolo continuo infiammatorio che determina aumento della citochina TNF alfa che determina aumento di NCF negli astrociti (***Kuno R**, Brain Res. 2006*)

STUDI DI EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE SBS

- Esaminando 389 impiegati in 87 uffici statali di 8 edifici in Taipei si è determinato il livello urinario di 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG).i risultati mostrano che i livelli di 8-OHdG è significativamente alto nei campioni con SBS rispetto al campione senza sintomatologia gli autori prospettano il 8-OHdG come markers e predittore della SBS sindrome ([Lu CY](#), [Ma YC](#), [Lin JM](#), [Li CY](#), [Lin RS](#), [Sung FC](#). *Inhal Toxicol.* 2007 *Jan Oxidative stress associated with indoor air pollution and sick building syndrome-related symptoms among office workers*
- In uno studio gli autori hanno correlato l'esposizione a polveri di libri, fotocopie in bibliotecari una piu' alta incidenza di malattie cardiache respiratorie , tumori sospetti e allergie
La carta funge da magnete dei PM Sia nell'aria interna che esterna si possono riscontrare diversi tipi di polveri, le cui dimensioni possono andare dal centesimo di μm fino a centinaia di μm (***Relationship of Lung Cancer and Heart Attack to Library Books' Dust*** Hassan Bolourchi, Ph. D. 2003, US Library of Congress)

STUDI DI EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE CFS

- Vi sono numerosi dati sperimentali a sostegno dell'ipotesi che nella CFS vi è una alterazione dell'asse ipotalmo ipofisi midollare surrene (HPA) disturbo della regolazione dei glucocorticoidi sui IL-10 ([Visser J](#) *J Neuroimmunol.* 2001 . [Gaab J](#), *Psychosom Med.* 2002)
- La base molecolare di questa disregolazione della HPA AXIS potrebbe consistere in alcuni polimorfismi a singolo nucleotide del recettore nucleare NR3C1 dei glucocorticoidi :sono stati studiati associazione tra variazioni genetiche del recettore dei glicocorticoidi receptor gene (NR3C1 e cfs sono stati esaminati nove single nucleotide polymorphisms (SNPs) del NR3C1 i risultati dimostrano che il recettore NR3C1 è un potenziale mediatore del CFS come possibile meccanismo dell'alterazione del l'HPA axis ([Rajeevan MS](#) *Genes Brain Behav.* 2007)
- la CFS è accompagnata da una reazione infiammatoria e da un aumento dello stress ossidativo e nitrosativo .Il fattore nucleare NFkappabeta rappresenta il maggior meccanismo intracellulare che regola i mediatori dello stress ossidativo; la sintomatologia fatica ,sintomi depressivi rifletterebero una risposta infiammatoria cronica : vi una correlazione positiva tra la produzione di NFkappabeta e la severità della sintomatologia ([Maes M](#), [Mihaylova I](#), [Bosmans E](#) *Neuro Endocrinol Lett.* 2007)

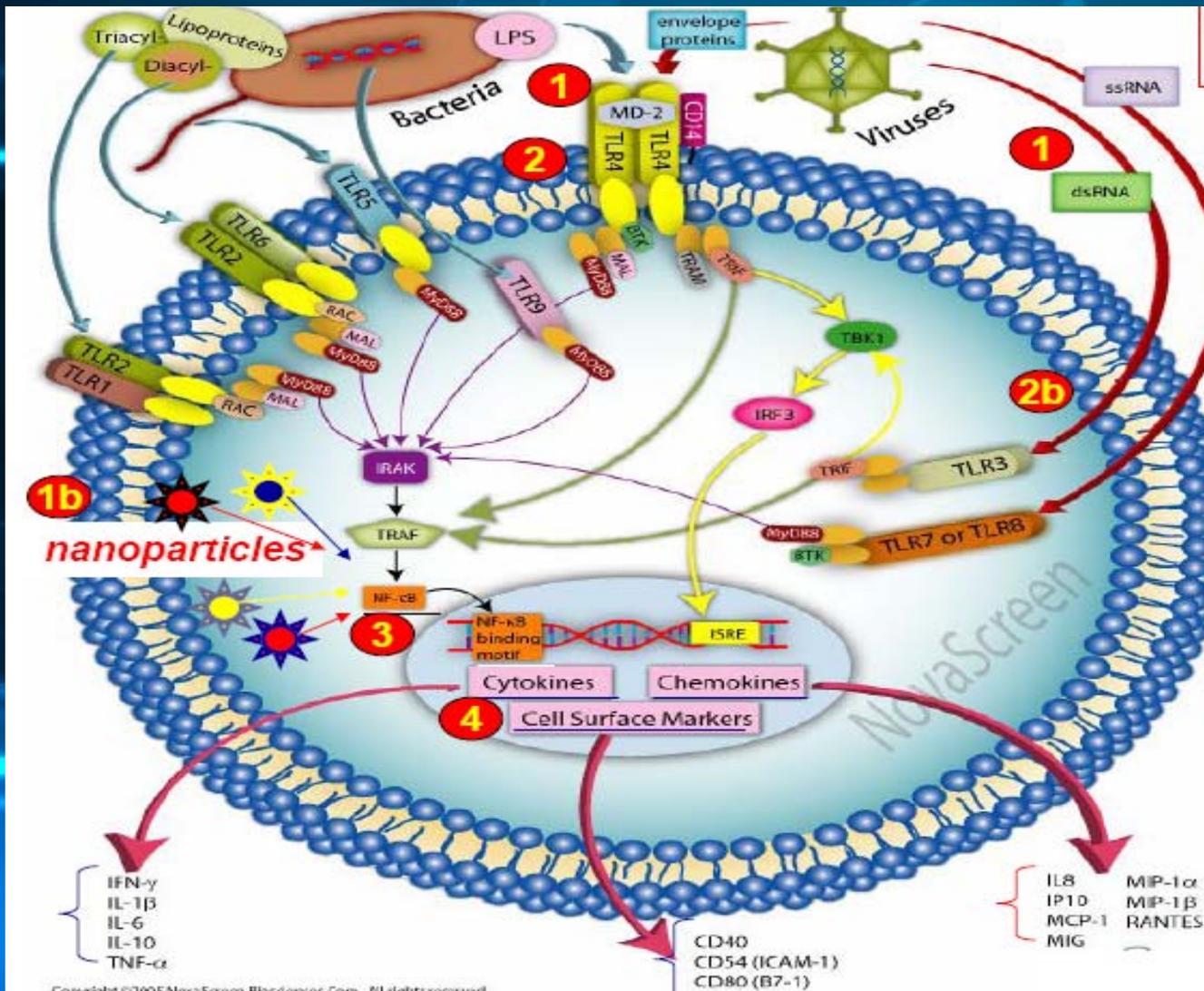
•

I POTESI FISIO-PATOGENETICA

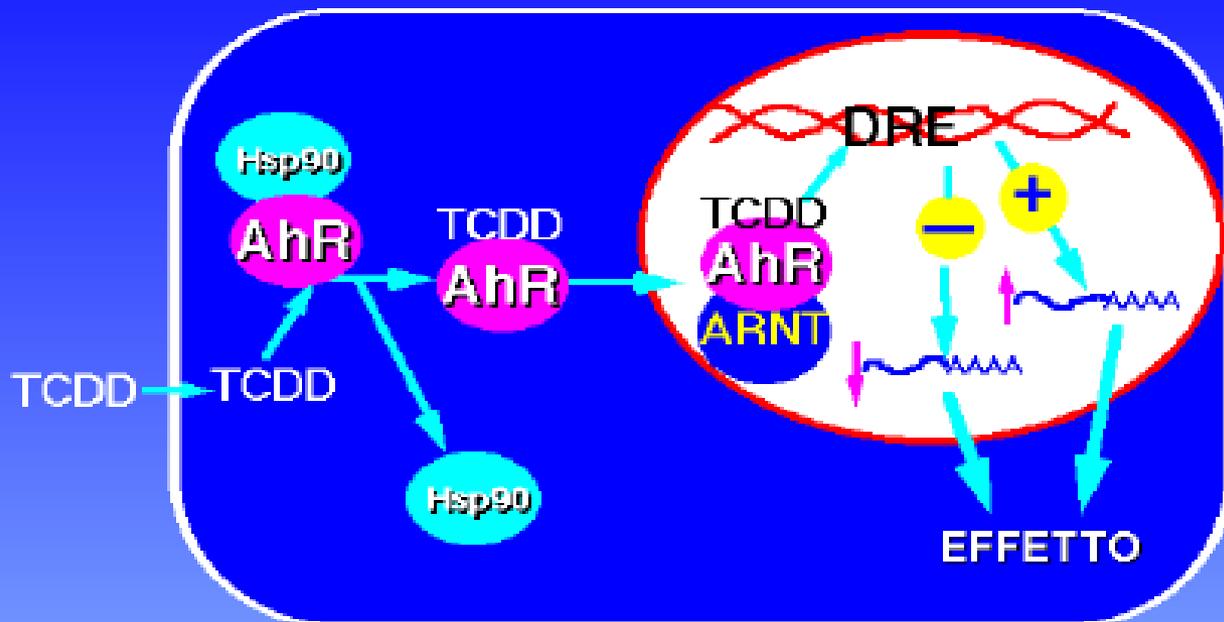
Dai dati analizzati sembra probabile che il meccanismo patogenetico potrebbe essere ipotizzato in un aumento dello stress ossidativo associato ad un esaurimento dei sistemi antiossidanti cellulari e ad una reazione immuno-infiammatoria mediata dal recettore intracellulare AHR (Aryl Hydrocarbon Receptor), una proteina solubile intracellulare in grado di legarsi a numerose sostanze aromatiche, alogenate

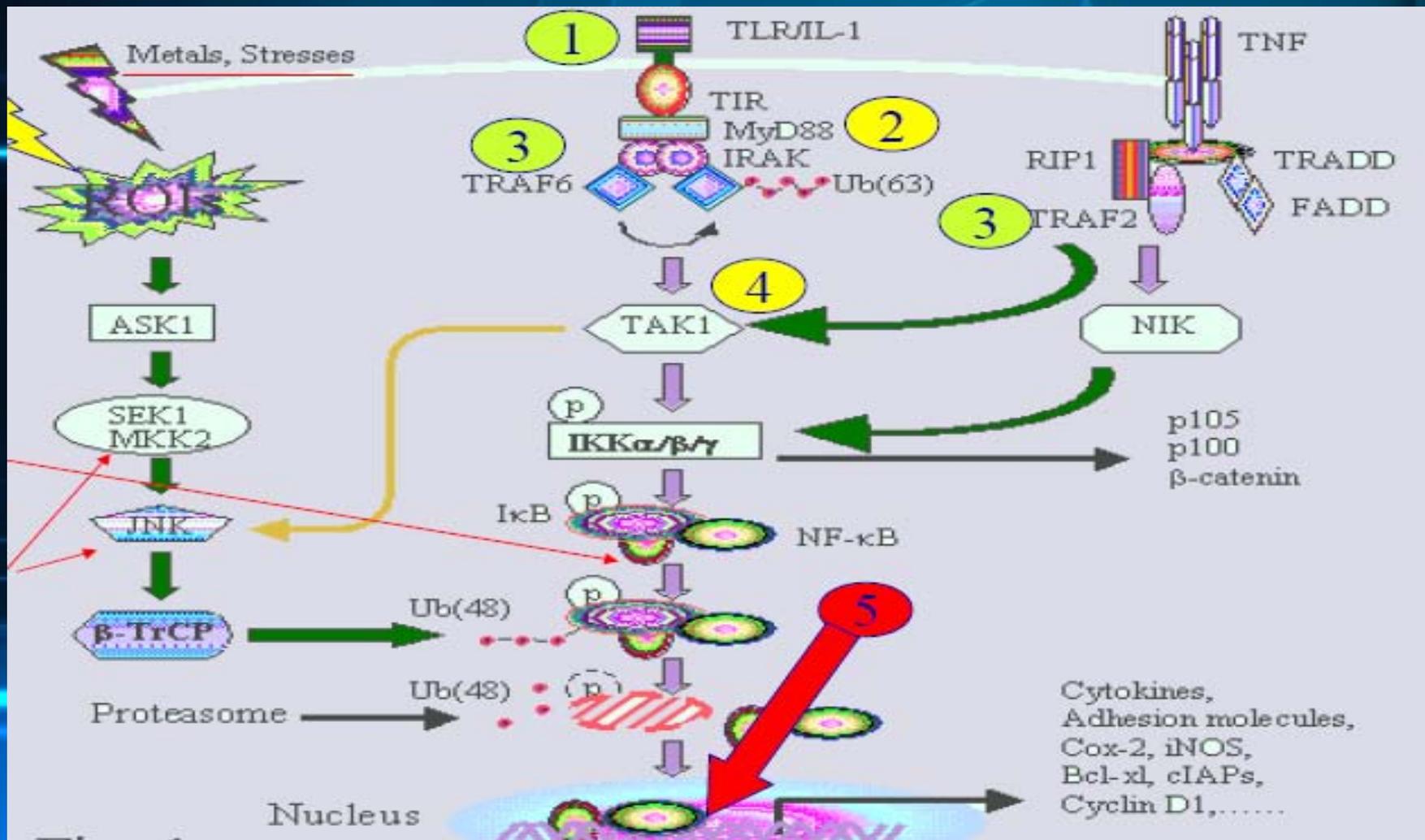
- Recenti studi hanno dimostrato che l'esposizione a pcb , idrocarburi policiclici aromatici , pesticidi clorurati , ipa, composti organici alogenati attraverso la stimolazione della aryl hydrocarbon receptor nei linfociti inducono alterazioni della omeostasi immunitaria

reazione immuno-infiammatoria



MECCANISMO D'AZIONE DELLA TCDD



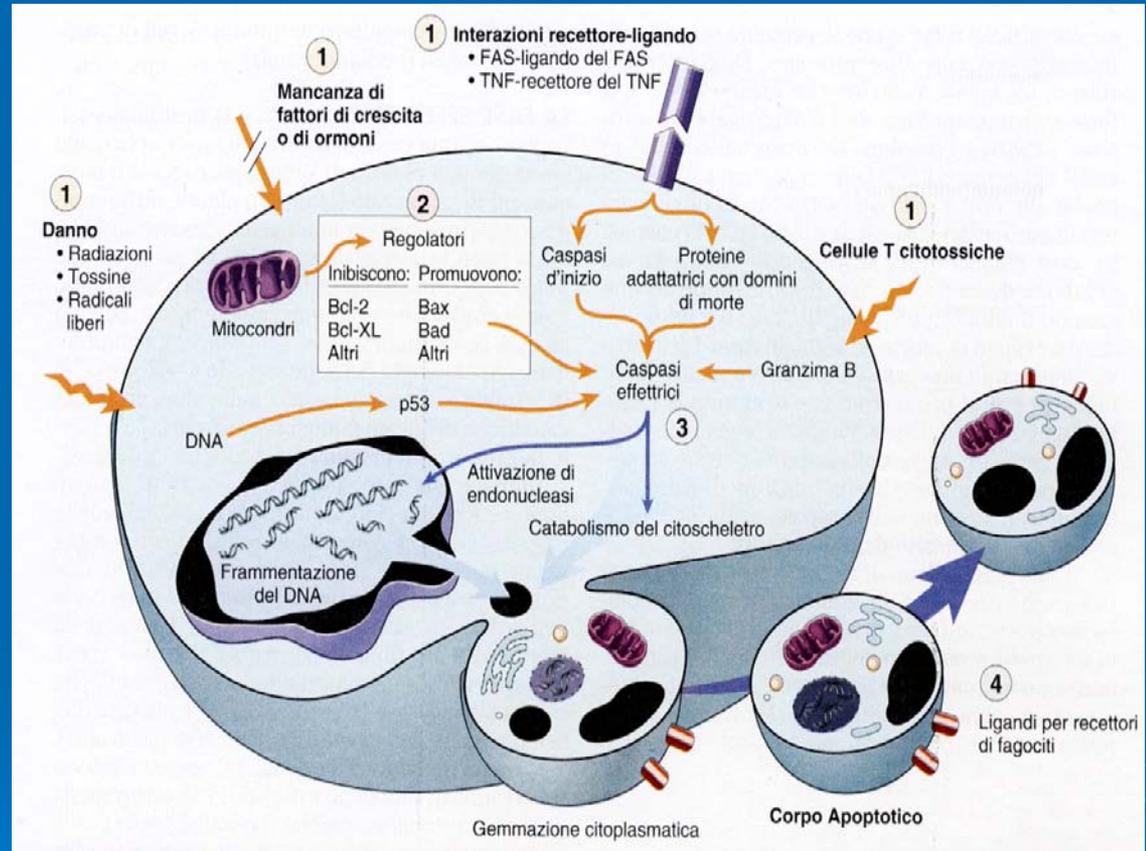


MECCANISMI RECETTORIALI : reazione immuno-infiammatoria

- Le Risposte immunitarie innate sono la prima linea di difesa contro i patogeni invasori xenobiotici stimoli fisici; infiammazione e risposta immunitaria innata sono due processi intimamente connessi , esse sono necessarie per dare inizio a risposte immunitarie adattative I macrofagi polimorfonucleati cellule dendritiche posseggono recettori (PRR) di membrana pattern recognition receptor che sono sensori di danno e di pericolo
- I macrofagi attivati producono due citochine proinfiammatorie TNF- α (fattore di necrosi tumorale) IL- 1 Interleuchina 1 che tramite una via di segnalazione intracellulare(si legano a recettori di superficie che tramite una serie di recettori proteici intracellulare) attivano le proteine NF- κ B che accendono la trascrizione di 60 geni che partecipano alla reazione infiammatoria
- Molecole di segnalazione lipidiche come le prostaglandine
- Segnalazione proteiche citochine
- Frammenti di complemento
- chemiochine chemioattraenti attraggono i neutrofili monoliti, cellule dendritiche raccolgono antigeni e li portano nei linfonodi dove l'attivazione delle *cascate citochiniche* e *chemochiniche*, provoca l'attivazione dei polimorfonucleati con conseguente messa in opera del *burst ossidativo*, produzione di ROS ed amplificazione progressiva del processo flogistico,

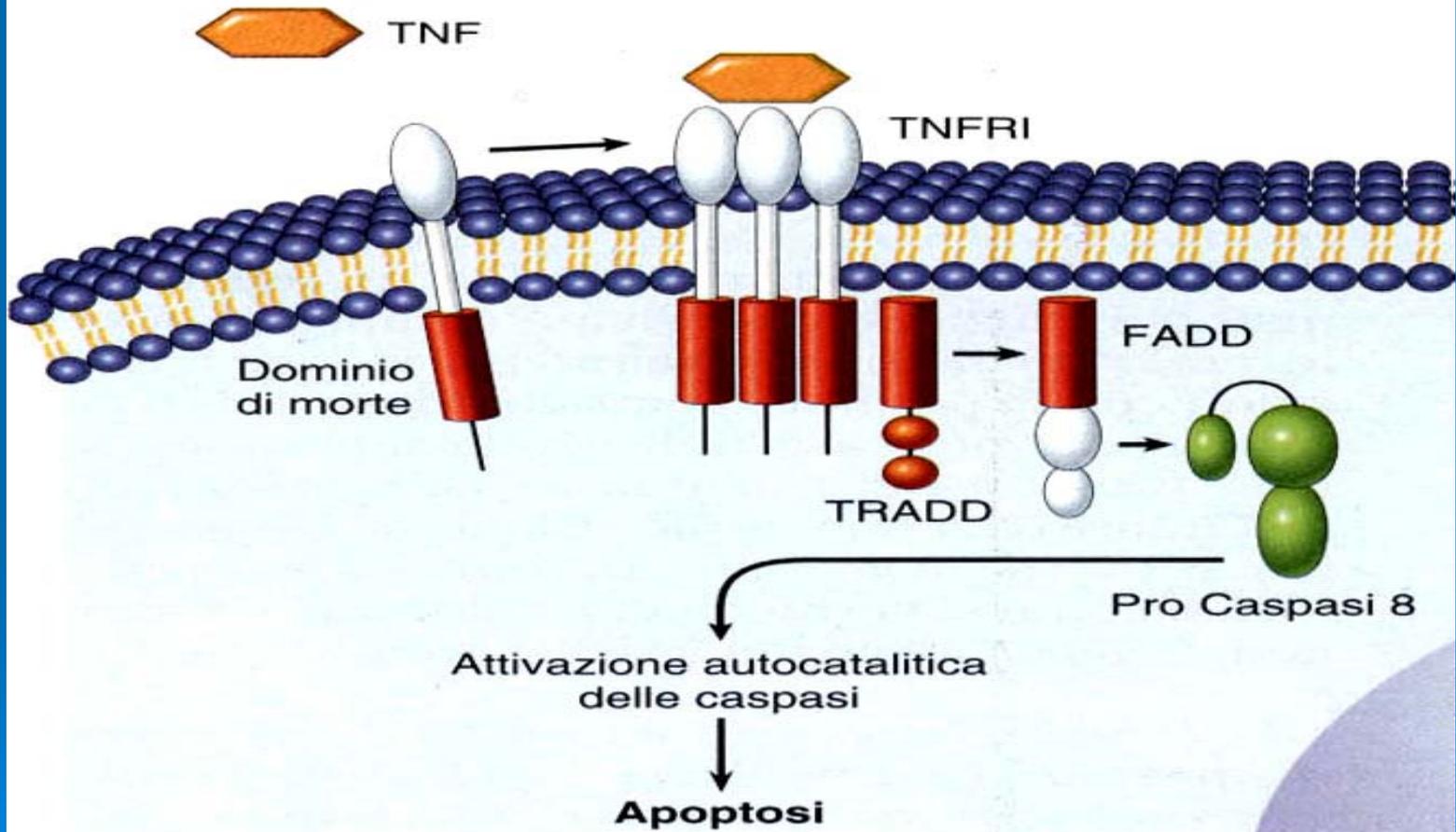
MECCANISMI RECETTORIALI : reazione immuno-infiammatoria

Allo xenobiotico e
particolati ultrafini le
cellula del sistema
immunitario (macrofagi
attivati) reagiscono con
segnali chimici
intracellulari ed
extracellulari: citochine
proinfiammatorie IL 1 e
TNF alfa che determinano
una complessa reazione
infiammatoria (reazione
vascolare cellulare e
proteica) di norma debole
e persistente



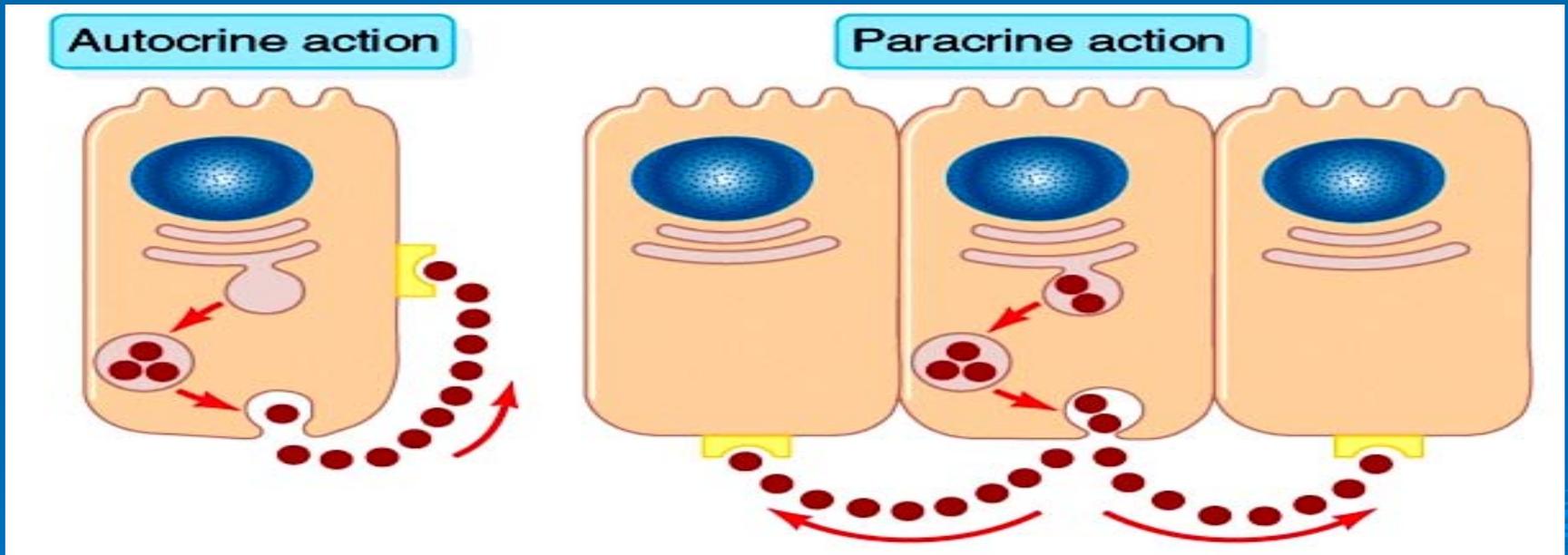
reazione immuno-infiammatoria

TNF α : *segnale di apoptosi*

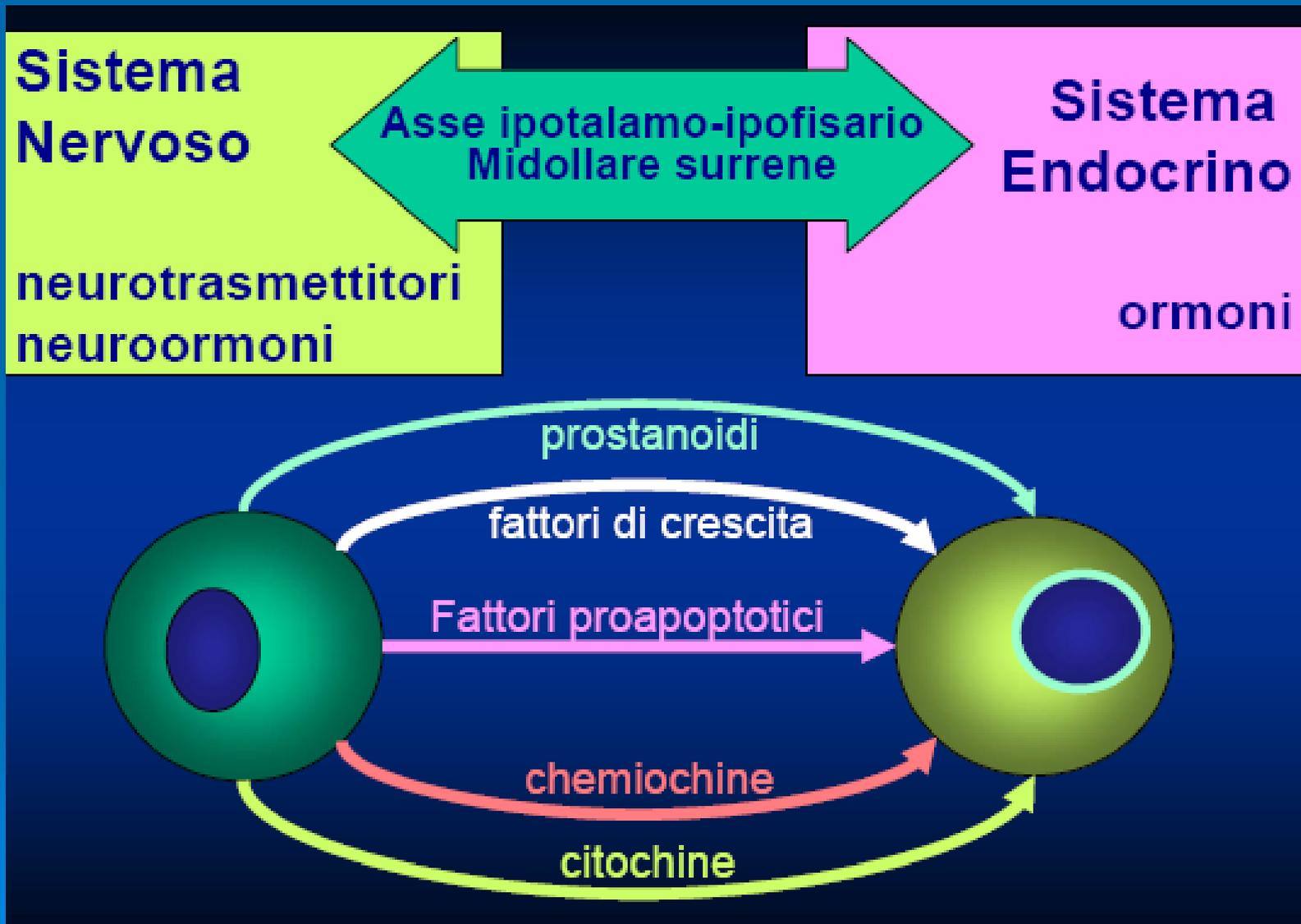


MECCANISMI MOLECOLARI DI COMUNICAZIONE EXTRACELLULARE:

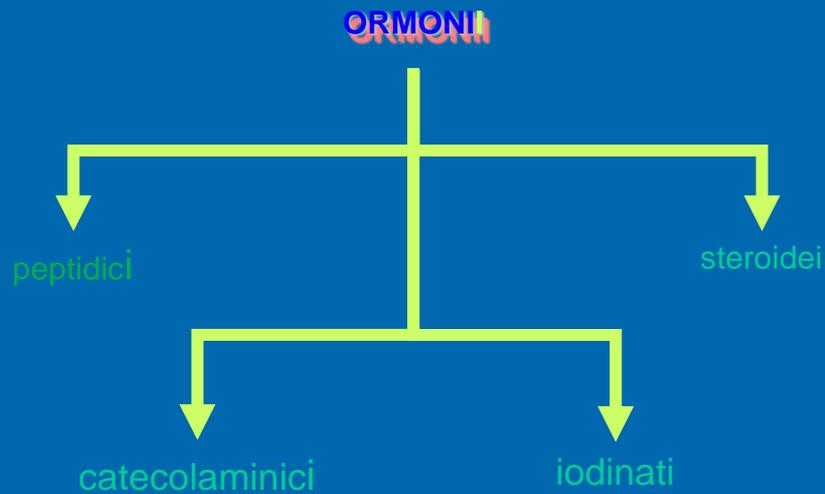
segnalazione da contatto
segnalazione paracrina
segnalazione endocrina
segnalazione sinaptica



MECCANISMI MOLECOLARI DI COMUNICAZIONE EXTRACELLULARE

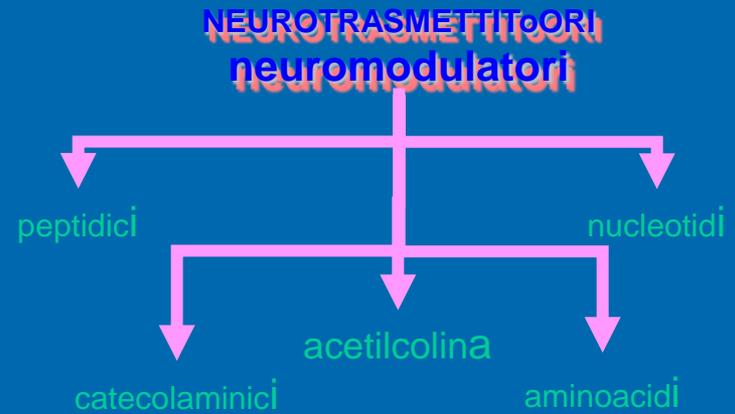


Interrelazioni tra sistema immunitario nervoso e endocrino



CITOCHINE
CHEMIOCHINE
Fattori di Crescita

Peptidi/glicoproteinee



PROSTANOIDI

lipidii

Interrelazioni tra sistema immunitario nervoso e endocrino

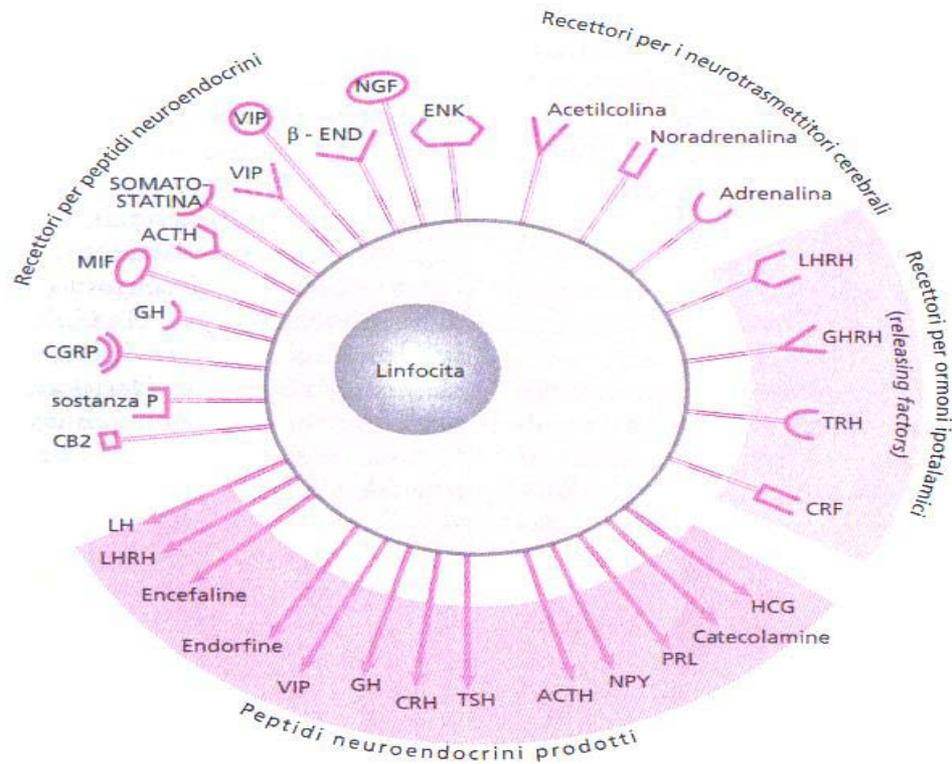


Fig. IV-5.

Fonte: J.E. Blalock *Neuroimmunoendocrinology*, III ed., Basilea, Karger, 1997; M. LeVite, *Nervous immunity*, 'TRENDS' in 'Immunology', 2001; 22: 199-204.

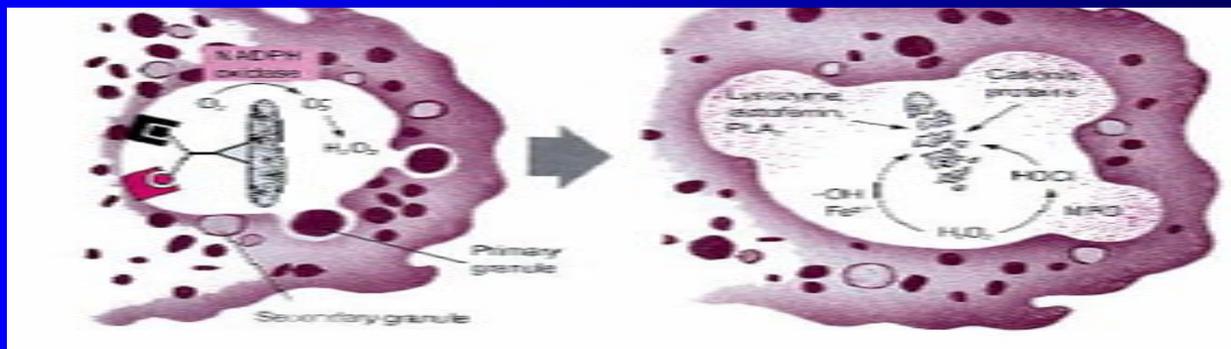
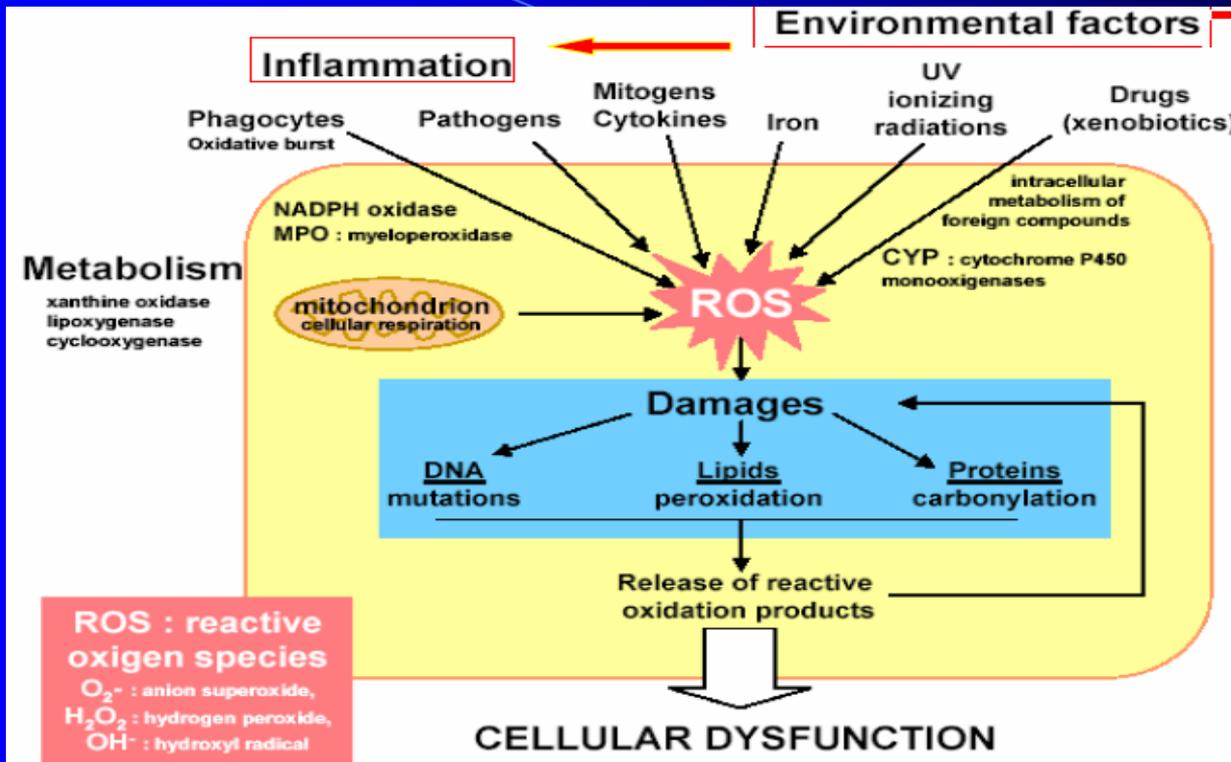
Interrelazioni tra sistema immunitario nervoso e endocrino

- I mediatori chimici della reazione immuno-infiammatoria le varie citochine → IL-1 e IL-6 inducono modificazioni biologiche sia a carico dei sistemi di neurotrasmissione (↑ del metabolismo delle catecolammine) sia a carico degli assi neuroendocrini (IL-1 attiva l'asse dello stress e inibisce gli assi tiroideo e gonadico)
- Queste modificazioni biologiche indotte dalle citochine nel cervello potrebbero spiegare modificazioni comportamentali nel cervello stanchezza cronica depressione del tono umore. Le citochine superano la BEI attraverso la via nervosa convogliata dal nervo vago (parasimpatico) , attraverso la circolazione sanguigna aggirando la barriera in due modi: entrando in aree in cui è scarsa o assente (ipofisi o eminenza mediana) o inducendo la sintesi di citochine nel cervello da parte degli astrociti e della microglia, a loro volta in grado di scatenare una reazione immunitaria locale

Interrelazioni tra sistema immunitario nervoso e endocrino

- È stata documentata **Sickness Syndrome** - a sfondo depressivo causati dall'azione infiammatoria delle citochine nel cervello, per defaillances nel cervello dei meccanismi di interruzione della reazione immunitaria
- A loro volta il cortisolo e le catecolammine - i prodotti della reazione da stress – disregolano la bilancia immunitaria in dipendenza dalla durata della risposta allo stress
- Stress acuto → effetto stimolante sul SI → incremento della produzione di anticorpi e proliferazione dei LT (cortisolo) e stimolazione dei LB e delle cellule NK (catecolammine)
- Stress cronico → il cortisolo – o prolungate terapie cortisoniche – e le catecolammine → inibizione della risposta Th1 e dislocazione sul profilo Th2
- Il cortisolo ottiene questo effetto inducendo il rientro dei LT nella milza, bloccando la produzione di citochine e inibendo l'attività delle cellule NK, fino a sollecitare quella dei LT soppressori
- una sovrapproduzione di CRH ha effetto inibitorio sull'asse gonadico, con alterazione della produzione di testosterone ed estradiolo → problemi nella sfera sessuale e riproduttiva e alterazioni a livello del sistema immunitario, a sua volta fortemente influenzato dagli ormoni sessuali
- la Prolattina a concentrazioni fisiologiche, in presenza di IL-2, promuove l'attivazione delle cellule NK e la crescita dei LT, cooperando alla differenziazione dei LT helper in Th1 Ad alte concentrazioni, invece, sopprime l'attività delle cellule NK
- la quota di melatonina non sottoposta alle variazioni ritmiche nelle 24 ore (tono di base di melatonina) ha una funzione di stimolo sul circuito Th1

MECCANISMO NON RECETTORIALE: STRESS OSSIDATIVO



MECCANISMO NON RECETTORIALE: STRESS OSSIDATIVO

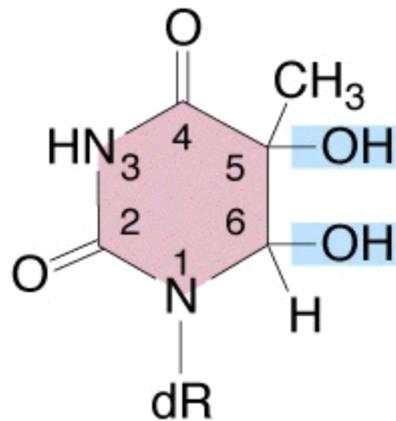
- I radicali liberi agiscono con meccanismo non recettoriale. Sono molecole estremamente reattive per la presenza di un elettrone spaiato nell'orbitale esterno.
Sono responsabili della lipoperossidazione e di alterazioni aspecifiche della permeabilità delle membrane plasmatiche; possono reagire con le proteine denaturandole e con il DNA.
- Radicali liberi si originano oltre che dalla fisiologica catena respiratoria mitocondriale dai macrofagi attivati e dai processi ossidativi microsomiali attivati dal metabolismo degli xenobiotici: l' H_2O_2 si forma come prodotto primario della riduzione dell'ossigeno da parte di numerose ossidasi a livello dei perossisomi, interagisce con le forme ridotte di alcuni metalloni come il ferro bivalente o il rame monovalente, e porta alla formazione dell'idrossi radicale e dello ione ossidrilico.
- L'idrossi radicale si può anche formare dall'interazione del superossido con l'acqua ossigenata. Lo ione superossido può infatti ridurre il Fe^{3+} a Fe^{2+} e quest'ultimo può a sua volta decomporre l'acqua ossigenata, dando luogo alla formazione di radicali OH secondo la reazione di Fenton.
- La reattività dell'idrossi radicale è talmente vasta, forma reazioni radicaliche libere a catena, in quanto reagisce immediatamente con qualsiasi molecola biologica nelle sue vicinanze, producendo dei radicali secondari di reattività variabile, che possono diffondere dal sito di origine determinando un danno a distanza.
- A livello cellulare ci sono dei sistemi enzimatici in grado di prevenire il danno causato da queste specie radicaliche. L'enzima superossido dismutasi (SOD) può eliminare il radicale superossido, che è il primo precursore dell'HO, mentre le catalasi e le perossidasi possono decomporre l'acqua ossigenata.

MECCANISMO NON RECETTORIALE: STRESS OSSIDATIVO

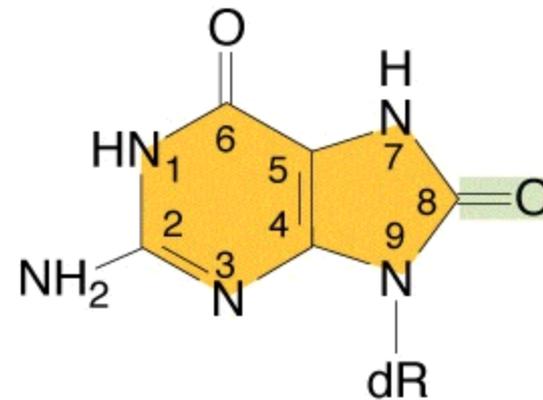
- **EFFETTI SULLE PROTEINE:** perdita di funzionalità per
 - ossidazione gruppi -SH ($\text{NO}\cdot$, $\text{HO}\cdot$, ONOO-)
 - ossidazione di alcuni AA (HIS, ARG, LYS, PRO)
 - liberazione del Fe per degradazione degli anelli porfirinici (H_2O_2)
- **EFFETTI SUI CARBOIDRATI:** frammentazione e depolimerizzazione per sottrazione di un H da un C sulla catena polisaccaridica con formazione di un radicale ($\text{HO}\cdot$)

MECCANISMO NON RECETTORIALE: STRESS OSSIDATIVO

EFFETTI SUGLI ACIDI NUCLEICI:
idrossilazione delle basi per addizione del radicale $\text{OH}\cdot$ o sottrazione di un H dalla molecola saccaridica.



Thymidine glycol

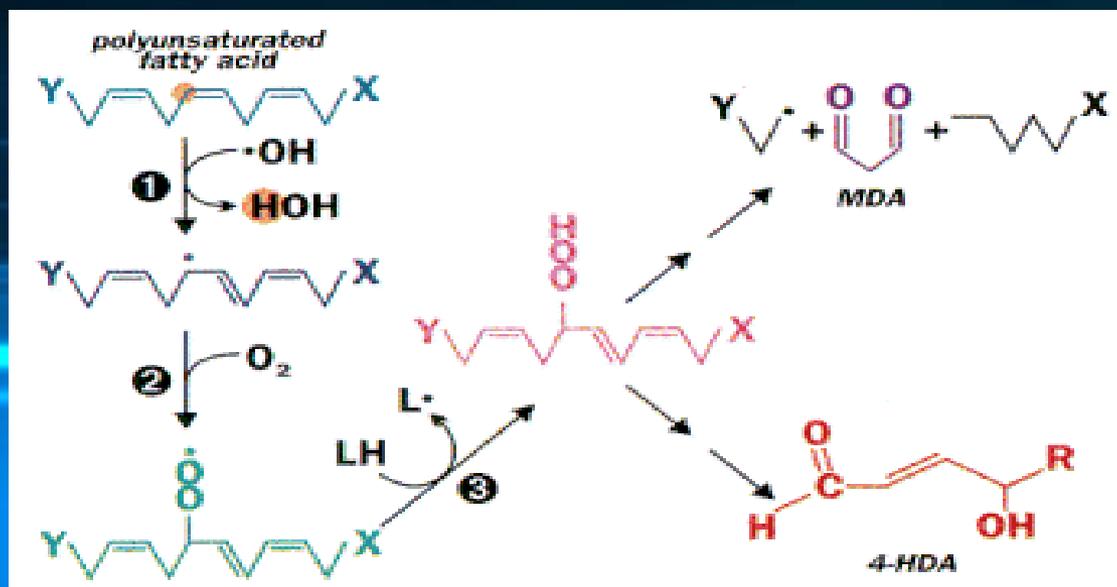


8-Oxo-7-hydrodeoxyguanosine
(8-oxodG)

MECCANISMO NON RECETTORIALE: STRESS OSSIDATIVO

PEROSSIDAZIONE LIPIDICA

- E' la classe di biomolecole più suscettibile all'attacco dei radicali
- L'autossidazione avviene a carico degli acidi grassi presenti nelle membrane cellulari o nelle lipoproteine
- La suscettibilità aumenta all'aumentare dei doppi legami
- La reazione di perossidazione porta alla formazione di prodotti secondari tossici o cancerogeni come aldeidi, chetoni, ...
- L'iniziatore principale è HO•



MECCANISMO NON RECETTORIALE: meccanismo d'azione dei metalli pesanti

- I metalli (arsenico, mercurio, etc.) riconoscono i gruppi sulfidrilici delle proteine come recettori responsabili della loro azione tossica. I metalli riconoscono anche un meccanismo di tossicità non recettoriale, più aspecifico che riguarda:
 - 1) L'alterazione della fluidità delle membrane cellulari
 - 2) La modificazione della struttura degli acidi nucleici

IN SINTESI

Le noxe chimiche , particolati , intermedi reattivi dell'ossigeno tramite meccanismi non recettoriali e recettoriali - attivazione di i recettori di membrana e citoplasmatici (" Aryl Hydrocarbon Receptor" AhR) attivano citochine infiammatorie primarie IL1 e TNF che tramite una complessa cascata di trasduzione del segnale porta alla

attivazione di NFkB e alle chinasi da stress JNK e p 38 e quindi attivazione di

geni proinfiammatori che producono

citochine IL 1 IL 6

chemochine

molecole di adesione endoteliali

enzimi che producono NO (no sintetasi) cicloossigenasi

fattori di crescita

fattori della coagulazione

Normalmente contemporaneamente si ha una **REGOLAZIONE NEGATIVA** : l'IL 1

e TNF agiscono sull'ipotalamo con produzione di acth e quindi glucorticoidi che

spengono la produzione di IL 1 E TNF

**Una alterazione della modulazione della omeostasi della reazione immuno-
infiammatoria compreso i meccanismi di “endocrine disrupting chemical”
potrebbero essere alla origine della cronicizzazione e evoluzione verso la
IEI- MCS-CFS ,
tale processo sembra mediato dal recettore intracellulare AHR (Aryl
Hydrocarbon Receptor),**

Aryl Hydrocarbon Receptor

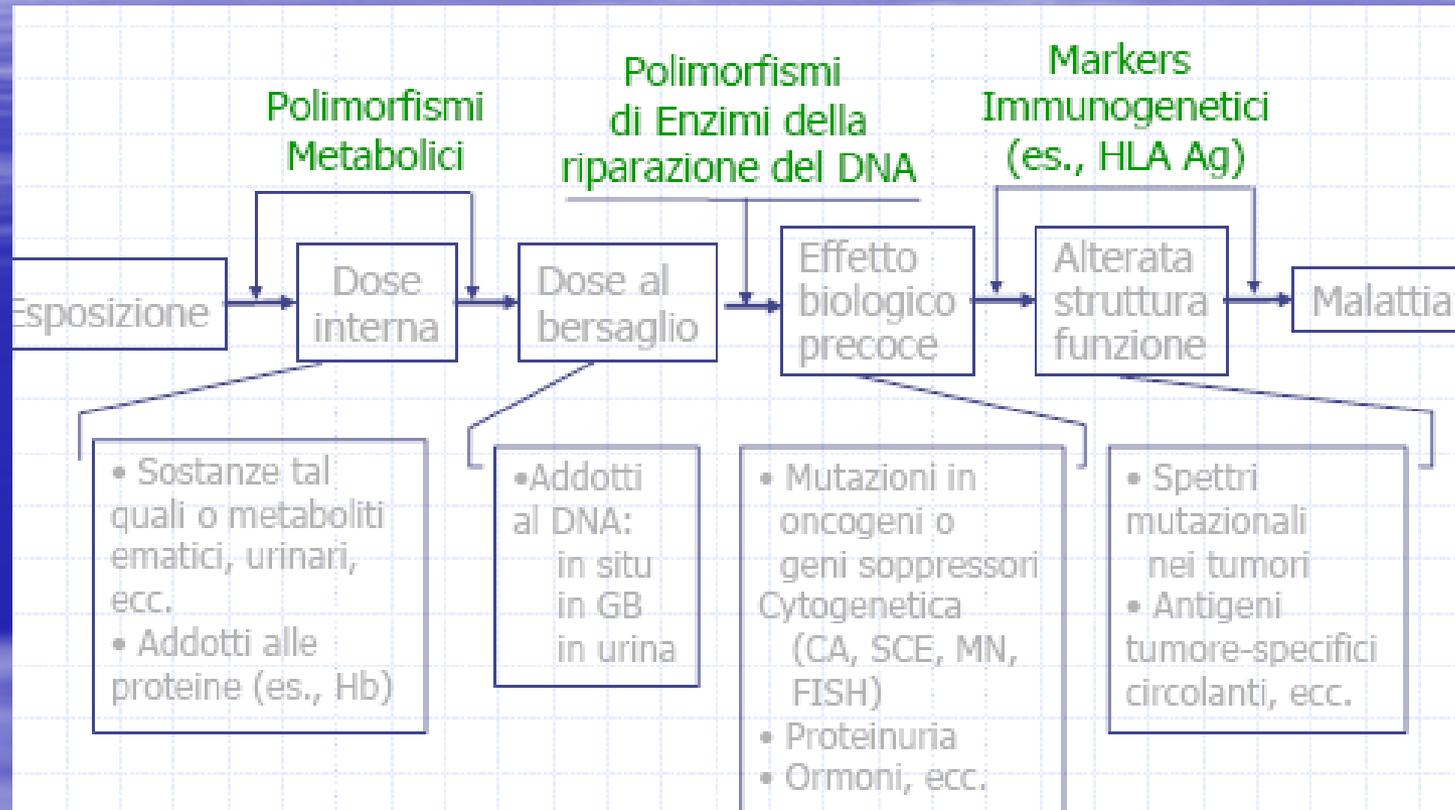
- La diossina pcb idrocarburi alogenati agiscono legandosi al recettore citoplasmatico "Aryl Hydrocarbon Receptor" AhR. Il legame TCDD-AhR provoca il rilascio da AhR della proteina regolatrice inibitoria Hsp90, una health shock protein, (oltre ad un polipeptide simil chaperone detto p23), e la migrazione del complesso nel nucleo dove, legato il fattore ARNT (Ah Receptor Nuclear Traslocator), induce la trascrizione di geni specifici.
- Questi geni, denominati DRE (Dioxin Responsive Elements) regolano le sintesi del citocromo microsomiale P-450 sono implicati nei meccanismi di differenziazione e divisione cellulare, nel metabolismo di alcuni ormoni come quelli tiroidei e di alcuni fattori di crescita.
- Il recettore AhR possiede caratteristiche biochimiche affini ai recettori per gli ormoni steroidi , meccanismi degli effetti neurotossici e di distruzione del sistema endocrino degli ECDs implicano il coinvolgimento del recettore cellulare AHR
- Essendo l'AhR un fattore trascrizionale genico, appartenente alla stessa classe c-Myc, un protooncogene, la sua anomala modulazione conduce a vari effetti distruttivi sulle funzioni cellulari

VALUTAZIONE PERSONALIZZATA DEL RISCHIO

Polimorfismi genetici degli enzimi metabolici degli xenobiotici degli enzimi antiossidanti e riparatori del DNA

- Si definisce “polimorfismo” una variante che si verifica nel 1-2% della popolazione. Si chiamano “mutazioni” quelle varianti, più rare, che si verificano in meno del 1% della popolazione. Gli SNPs, scoperti negli anni 80, sono variazioni di sequenza del DNA che si verificano quando è alterato un singolo nucleotide della sequenza genomica possono trovarsi su regioni codificanti che non codificanti
- La capacità metabolizzante individuale è determinata, oltre che da fattori genetici, anche da fattori ambientali (induzione enzimatica)
- la variabilità individuale nel metabolismo degli xenobiotici è determinata dai polimorfismi genetici del singolo nucleotide degli enzimi della fase 1 e fase 2 della glicoproteina p e degli enzimi di riparazione del Dna
- lo studio dei polimorfismi genetici apre grandi sviluppi nella farmacogenetica nella prevenzione permettendo di superare i TLV e andare verso una personalizzazione del rischio

Biomarker di dose di effetto e suscettibilità



POLIMORFISMI DEL DNA

- Polimorfismi di enzimi metabolizzanti xenobiotici possono essere usati come biomarkers di suscettibilità verso inquinanti ambientali cancerogeni . ([Thier R](#), [Brüning T](#) Int J Hyg Environ Health. 2003 Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes. [Vodicka P](#), [Koskinen M](#)**DNA adducts, strand breaks and micronuclei in mice exposed to styrene by inhalation.** [Vodicka PE](#), [Linhart I](#), [Novak J](#)**7-Alkylguanine adduct levels in urine, lungs and liver of mice exposed to styrene by inhalation.)**
- Un trial sottolinea la migliore capacità ripartiva delle escissione di basi del DNA in cellule linfocitiche umane con supplementazione di dieta antiossidanti (kiwifruit, coenzyme Q(10) and carrots) e diminuisce in particolari polimorfismi del “hOGG1 Ser326Cys” ([Collins AR](#), [Gaivão I](#).DNA base excision repair as a biomarker in molecular epidemiology studies.)

POLIMORFISMI DEL DNA

- Si è studiato l'attività dell' 8 oxoguanina dna glycolase (OGG) in estratti di cellule umane del sangue notando una riduzione di attività nei maschi superando i 55 anni di età ([Paz-Elizur T, Elinger](#) DNA Repair (Amst). 2007 Development of an enzymatic DNA repair assay for molecular epidemiology studies: distribution of OGG activity in healthy individuals.)
- Risultati in vitro suggeriscono che il polimorfismo " hOGG1 Ser326Cys" il codone 326 gioca un ruolo importante nel rischio di cancro gastrico e polmonare in soggetti fumatori [Poplawski T, Arabski M, Kozirowska D](#) DNA damage and repair in gastric cancer--a correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphism [Poplawski T, Arabski M, Kozirowska D](#) DNA damage and repair in gastric cancer--a correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphism [Poplawski T, Arabski M, Kozirowska D](#) DNA damage and repair in gastric cancer--a correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphism

POLIMORFISMI DEL DNA

- Su cellule di lavoratori esposti a stirene si è osservato variazione degli effetti genotossici (DNA strand breaks, N1-styrene-adenine DNA adducts, chromosomal aberrations and mutant frequencies at the HPRT locus) alta capacità riparatoria in soggetti con polimorfismo GSTM1-us comparati con quelli con delezione di GSTM1 la capacità di riparazione del DNA era bassa in individui con variante “Gln/Gln genotype in XRCC1 Arg399Gln” che in quelli che presentavano “heterozygous Arg/Gln and wild-type Arg/Arg genotypes”. significativamente basso il livello in quelli che presentavano “ wild-type Lys/Lys genotype in XPC Lys939Gln” ([*Slyskova J, Dusinska M, Mutat Res. 2007 Relationship between the capacity to repair 8-oxoguanine, biomarkers of genotoxicity and individual susceptibility in styrene-exposed workers.*](#))
- Altri studi hanno correlato il danno immunono-genotossico dello stirene con geni codificanti enzimi di riparazione del DNA (XPD, exon 23, XPG, exon 15, XPC, exon 15, XRCC1, exon 10, XRCC3, exon 7) e ciclina D1 ([*Kuricova M, Naccarati A, Kumar R, Environ Res. 2007 OctDNA repair and cyclin D1 polymorphisms and styrene-induced genotoxicity and immunotoxicity.*](#))

POLIMORFISMI DEL DNA

Funzioni cellulari	Polimorfismi genetici
Biotrasformazione	
· Fase 1	<i>ADH 1B, ADH 1C, ALDH2, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, SOD2,</i>
· Fase 2	<i>COMT, GSTA1, GSTA2, GSTA4, GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTT2, EPHX1, MTHFR, MPO, NQO1, NAT-1, NAT-2, SUL1A1, TPMT, UGT1A1, UGT1A7</i>
Riparazione DNA	
· Reversione diretta	<i>MGMT</i>
· Excisione di basi	<i>APE1, ERCC1, ERCC2, ERCC4, ERCC5, hOGG1, LIG3, MPG, PCNA, POLB,</i>
· Rotture a doppio filamento	<i>XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC9</i>
Proliferazione, apoptosi	<i>CDKN1A, CDKN1B, EGF, EGFR, H-ras, MDM2, p53, VHL</i>
Controllo ormonale	<i>AR, CYP17, CYP19, GRPR, SRD5A2, VDR</i>
Controllo nervoso	<i>DAT, DRD2, DRD4</i>
Controllo immunitario	<i>HLA, citochine e loro recettori, chemochine e loro recettori</i>

Determinanti del rischio



Rischio come
✓ Probabilità
✓ Possibilità
(IUPAC, WHO)

Da: IUPAC, International Union of Pure & Applied Chemistry; Glossary for Chemists of Terms used in Toxicology, Pure & Applied Chemistry 1993, 65: 2003-2122)

Tutti questi dati concludono che la suscettibilità individuale agli xenobiotici ambientali e occupazionali dipende dai polimorfismi del DNA

MISURE PREVENTIVE

- Ventilare adeguatamente gli spazi chiusi.
- Preferire apparecchiature a bassa emissione di O_3 . Impiegare stampanti laser dotate di filtri per l'ozono. Effettuare un'adeguata manutenzione delle apparecchiature; Collocare le apparecchiature in ambienti separati e dotati di sistemi di ventilazione muniti di scarico delle emissioni verso l'esterno;
- Delocalizzare come recentemente ha fatto L'INAIL gli archivi cartacei
Selezionare fogli che non abbiano subito trattamenti con formaldeide;
- Molte amministrazioni stanno realizzando asili nido e uffici pubblici secondo i principi della bioarchitettura
- Dotare gli ambienti lavorativi di filtri fotocatalitici per l'abbattimento dei vocs.

CONCLUSIONI

- Le tematiche dell'inquinamento outdoor e indoor avranno sempre maggiore importanza nella scienza biomedica e medicina preventiva
- Vi sono numerosi dati a sostegno dell'ipotesi di una etiologia chimico-immuno-tossicologica della SBS IEI- MCS in un contesto di suscettibilità individuale da polimorfismi e diverso impatto genotossico e immunotossico
- Lo studio dell'espressione e funzione delle proteine (proteomica funzionale) e dei meccanismi fisio—patologici a livello molecolare aiuta a comprendere quali sono i meccanismi etiopatogenetici delle malattie ed è fondamentale per la scoperta di BIOMARKER di dose di effetto e suscettibilità al fine di personalizzare il rischio e la prevenzione
- Numerosi studi che inquadrano la MCS come una sindrome psichiatrica hanno una loro rilevanza scientifica in quanto i sintomi neurologici sono prevalenti in tale sindrome ; dati sperimentali ed epidemiologici suggeriscono l'ipotesi che tali sintomi **non sono la causa bensì l'effetto** di tale patologia che a livello biochimico molecolare riconosce una alterazione dell'omeostasi Immunologia e piu' in generale dei sistemi integrativi di comunicazione intercellulare (neuro immuno endocrino) innescata da una continua e sempre piu' pesante esposizioni a noxe ambientali (solventi organici ,PM) sia indoor che outdoor