

Le Basi Molecolari

della Multiple Chemical Sensitivity, Myalgic Encephalomyelitis/CFS
, Deficit mitocondriale secondario
neuro immune cross talk nelle sindromi ambientali
da interferenti endocrini, metalli pesanti



DOTT GIACOMO RAO

specialista in medicina legale e delle assicurazioni

specialista in malattie dell'apparato cardiovascolare

Email giacomorao @alice.it

Tel 339 8790609 fax 06 23327302

SENSIBILITA' CHIMICA MULTIPLA

MCS: "La Nuova Letteratura delle Malattie Ambientali"

Bari 29 ottobre 2011

*La verità autentica è sempre inverosimile.
Per renderla più credibile bisogna assolutamente mescolarla con un po' di menzogna.(Feodor Dostoevskij)*

- 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 and outdoor environment
- 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 heavy metals affect the transport of mitochondria , mitochondrial--Ca²⁺ transport kinetics in synaptic milieu leading to defective mitochondrial function, decreased oxidative phosphorylation, decreased ATP and accumulation of reactive oxygen species energy failure leading to chronic neurotoxicity, serious consequences and functional disorders involving multiple organ dysfunction syndrome

La logica molecolare della vita

- È in corso una rivoluzione scientifica che ci darà farmaci più sicuri migliorerà la qualità della vita
- Questa rivoluzione si basa sulle biotecnologie sulla biologia e medicina molecolare sulla scoperta delle basi chimico-molecolari delle malattie sulla genomica proteomica lipidomica funzionale
- La MCS è il paradigma di tutte le malattie ambientali è una sindrome che va dalla “sindrome dell’edificio malato” “Sindrome da fatica cronica” “encefalomielite mialgica”, fino ad arrivare all’endometriosi, effetti neurocomportamentali dell’esposizione ai PCB interferenti endocrini metalli pesanti durante lo sviluppo, malattie degenerative del sistema nervoso e cardiovascolare

Sindromi correlate ad esposizione a IE

- Diverse evidenze scientifiche correlano la esposizione a interferenti endocrini xeno biotici come bisfenolo A, Ftalati, diossine, policlorobifenili (PCBs), idrocarburi poliaromatici (PAHs), furani, fenoli stirene pesticidi organo clorurati e mercurio arsenico cadmio alluminio e altri metalli pesanti a una **serie di sindromi**: *Endometriosi ,gulf war, alcune malattie neurodegenerative ,SLA , disturbi neurocomportamentali nei bambini , autismo, multiple chemical sensitivity- ICD10 T 78.4 , Chronic Fatigue syndrome / myalgic encephalomyelitis ICD10 G93.3 fibromyalgie ICD10M 79.0 , intolleranza a xenobiotici ambientali classificabile come disturbo respiratorio non specificato in relazione all'esposizione ad agenti chimici ,gas fumi vapori" -ICD 10 J 68.9)*
- La multiple chemical sensitivity rappresenta un modello di patologia immuno neurotossica ambientale, che assomma fattori di tipo metabolico e genetico, epigenetico; caratterizzata da disfunzione mitocondriale secondaria elevati livelli nei tessuti e suscettibilità a metalli pesanti (mercurio arsenico, alluminio piombo e cadmio) nei tessuti ,deficit degli enzimi metabolizzanti gli xenobiotici , deficit degli enzimi antiossidanti , stress ossidativo cellulare , deficit energetico cellulare ,disregolazione del sistema neuro-endocrino immunitario con stato di infiammazione cronica diffusa e patologie multi organo ,che si manifesta con grave astenia , polineuropatia sensitiva motoria e viscerale intolleranza a diversi xenobiotici ambientali anche a bassissima dose

Sindromi correlate all'inquinamento indoor Sick Building Syndrome

- 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
- **I SINTOMI della SBS** si manifestano in una elevata percentuale di soggetti che lavorano in ufficio (in genere superiore al 20%),.
- **Mal di testa**
- **Arrossamento degli occhi**
- **Difficoltà di respirazione**
- **Irritazione della pelle**
- **Nausea**
- **Fatica difficoltà di concentrazione**
- tendono a regredire completamente a distanza di poche ore o di 2-3 giorni dall'abbandono dell'edificio.
- La SBS 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.

Dimensione del problema

- 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 Syndrome* (Sindrome dell'edificio malato – SBS)
- La maggior parte della popolazione lavorativa svolge attualmente la propria attività in ambienti confinati non industriali quali uffici, ospedali, biblioteche, strutture per attività ricreative e sociali, mezzi di trasporto. Una qualità non ottimale dell'aria di questi ambienti può comportare negli occupanti l'insorgenza di disagi, malessere o vere e proprie malattie, definite "malattie correlate con gli edifici"

AMBIENTE INDOOR

- Quando si parla di ambiente indoor e di qualità dell'aria interna ci si riferisce ad ambienti confinati *di vita e di lavoro non industriali*. Pertanto il termine **ambiente indoor** è riferito comunemente alle abitazioni, agli uffici pubblici e privati.
- Della **popolazione** attualmente **occupata** in Italia (circa 22.000.000 di persone), solo il 5% circa è impiegato nell'agricoltura e il 31,8% nell'industria; oltre il 63% svolge altre attività, fra le quali quelle del terziario, che rappresentano la quota più rilevante e sono svolte in ambienti indoor.
- Nel corso degli ultimi 30-40 anni il **lavoro d'ufficio**, nei paesi industrializzati, ha subito profonde trasformazioni, sia per quel che riguarda l'ambiente (caratteristiche costruttive), per quel che riguarda gli strumenti, l'uso di macchine (fotocopiatrici, stampanti ecc.) .
- Sono diventate sempre più frequenti le segnalazioni di disagio, di malessere, o di vere e proprie malattie fra coloro che svolgono lavoro d'ufficio o attività lavorative in ambienti indoor; a tali affezioni è stato dato il nome generale di "**Building related illnesses**" (**BRI**) o "**malattie correlate**".
- 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.

AMBIENTE INDOOR

- 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%
- ChemSec, Società Svedese per la Conservazione della Natura (SSNC) e altre ONG, hanno analizzato la polvere nelle camere da letto in tutta l'UE, Africa e Asia. La relazione finale, *Home Sweet Home - sorprese polverosi sotto il letto* dimostra ELEVATI LIVELLI DI interferenti endocrini (IE)
- *Gli europei passano fino al 90% del loro tempo al chiuso, dove l'esposizione a sostanze chimiche ad essere superiore a quella riscontrata all'esterno. Gli interferenti endocrini vengono rilasciati da molti prodotti comunemente presenti nelle nostre case, tra cui mobili, strumenti elettronici, cosmetici e giocattoli.*
- *nonilfenolo e alcuni ftalati, sono state trovati a livelli più alti nelle case europee*
- *il livello totale di ftalati sono in alcune zone in concentrazioni superiori a quelle considerate oggi sicure dalle autorità pubbliche, se si considera "l'effetto sinergico I".*

identificazione e definizione di interferente endocrino fonti di esposizione

- principali IE sono:
-
- **diversi pesticidi e fitofarmaci e biocidi :**
- **Insetticidi organoclorurati:** ddt, aldrina, dieldrina, endrina, epatacloro, clordanoi,
- **Erbicidi:** triazine, fenossiacetici.
- **Fungicidi :** esaclorobenzene , procimidone , azoli fenarimol imidazoli, triazoli vinclozolin .
- **Rodenticidi**
- **insetticidici organofosforici :** Clorpirifos , diazinone, dimethoate fenathion, malation
- **Carbammati EBCD (etilenbisditiocarbamati)**
- **Diossine furani , policlorobifenili-PBCs**
- **bisfenolo A , ftalati (plastificanti) , i ritardanti di fiamma polibromurati ,, acido perfluorooctanico (PFOS) e suoi sali;**
- **pentacolorofenolo**
- **Fitoestrogeni (isoflavoni, lignani curcumina Composti agrozootecnici (anabolizzanti)**
- **a questi bisogna aggiungere anche se non vengono annoverati fra i classici “interferenti endocrini “**
- **fenoli ,stirene , IPA**
- **particolato aerodisperso (PM 10 , PM 2,5)**
- **arsenico mercurio cadmio boro manganese piombo e tallio uranio e altri metalli pesanti presenti negli alimenti e sui PM**

POP (PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS)

- Molte di queste sostanze sono **persistenti**, poiché resistono alla degradazione e possono percorrere anche lunghe distanze dai loro punti di emissione: la loro origine è nelle aree molto industrializzate e coltivate intensivamente. Esse vengono quindi definite comunemente “inquinanti organici persistenti” (Persistent Organic Pollutants).
- **La Convenzione di Stoccolma sugli inquinanti organici persistenti (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, POPs)**
 - aldrina
 - clordano
 - dieldrina
 - endrina
 - eptacloro
 - esaclorobenzene
 - mirex
 - toxafene
 - bifenili policlorurati (PCB)
 - DDT
- **Limitare la produzione non intenzionale** delle seguenti sostanze, prodotte ed emesse ad esempio durante i processi di combustione e processi industriali
 - policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e policloro-dibenzofurani (PCDF)
 - esaclorobenzene
 - bifenili policlorurati (PCB)
 - pentaclorobenzene
- A maggio 2009, alla Convenzione di Stoccolma sono stati aggiunti i nove prodotti commerciali elencati qui di seguito.
 - perfluorottano solfonato (PFOS) pentabromodifeniletere (PBDE) octabromodifeniletere (OBDE) clordecone esabromobifenile lindano alfa-esaclorocicloesano beta-esaclorocicloesano pentaclorobenzene
- È attualmente al vaglio di un comitato scientifico la proposta di inserire nella Convenzione altre tre sostanze: paraffine clorate a catena corta endosulfano esabromociclododecano (HBCDD)

Gli inquinanti ambientali hanno queste caratteristiche

- **PERSISTENZA**
- **LIPOSOLUBILITA**
- **BIOACCUMOLO**
 - **SINERGIA**
- **DANNI EPIGENETICI**

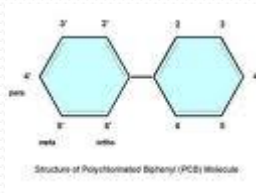
BIOACCUMULO

- Gli inquinanti persistenti non conoscono confini: si diffondono attorno al globo trasportate dalle correnti dell'aria e dal mare. In corrispondenza dei poli, o delle alte regioni montagnose, il clima freddo ne favorisce i processi di condensazione e così si depositano nuovamente con le precipitazioni, raggiungendo la terra o l'acqua ed entrando nella catena alimentare.
- I POPs si concentrano nel tessuto adiposo degli organismi attraverso un processo noto come **bioaccumulo**.
- Tra le donne degli Inuit, popolo che si nutre soprattutto di pesce e carne, il latte materno contiene un tasso di POP dieci volte superiore a quello registrato in altre donne che vivono in Canada. (HELCOM, 2002)
- Le diossine non esistono pure in natura ma vengono generate come sottoprodotti non voluti di numerosi processi di produzione, utilizzazione e smaltimento del cloro e dei suoi derivati. Le emissioni industriali di diossine possono essere trasportate per grandi distanze dalle correnti atmosferiche, dai fiumi e dalle correnti marine.
- Le diossine immesse in atmosfera, sono prodotte da
 - Inceneritori per rifiuti urbani (26%) Fonderie (18%) **Bruciando il legno trattato si forma diossina**
- Se l'erba contaminata è mangiata da erbivori, le diossine si trasferiscono dall'erba ai tessuti grassi di questi animali.
- In questo caso lo strato adiposo funziona come "serbatoio" di diossine, da cui tali sostanze sono "prelevate" durante l'allattamento, per passare nel latte. Ovviamente questo fenomeno riguarda tutti i mammiferi.
- Le diossine" tramite la catena alimentare, si concentrano nella carne e nei prodotti caseari, per raggiungere infine l'uomo. La quantità di diossine nell'uomo è maggiore di tutti gli altri mammiferi in quanto l'uomo è l'ultimo tassello della catena alimentare, quindi concentra le diossine nei propri grassi a livelli maggiori di quelli che si trovano nel cibo con cui si alimenta, in particolare latticini, carne e pesce.

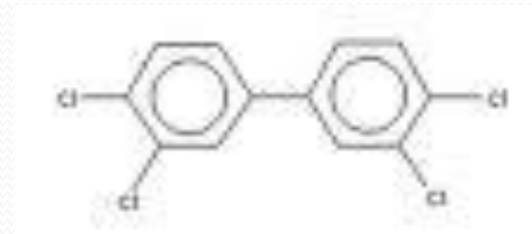
Uno studio condotto sul latte delle mamme svedesi repeta 18 **picogram/gr di grasso**
- Piombo cadmio cobalto e altri metalli pesanti, si concentrano nel tessuto nervoso fegato rene ossa,
- sono dimostrati effetti **sinergici** di tossicità tra singole sostanze ritenute singolarmente a dosi sicure producendo effetti tossici danni epigenetici disfunzioni enzimatiche , disfunzioni mitocondriali secondarie a dosi basse

I policlorobifenili (PCB) costituiscono un gruppo di 209 congeneri diversi che possono essere suddivisi in due gruppi in base alle loro proprietà tossicologiche: un gruppo esiguo (12) presenta proprietà tossicologiche simili alle diossine e pertanto definite “PCB diossina-simili” (PCB-dl) e una parte non presenta una tossicità simile a quella delle diossine pertanto definite non diossina simili (PCB-nl).

biphenyl



tetrachlorobifenil



DIOSSINE FURANI PCB

Bruciando il legno trattato si forma diossina

Cartiere: Utilizzo di cloro Cl₂ Sbiancamento pasta legno per carta contenente lignina formazione di furani e diossine

inceneritori rifiuti ospedalieri (14%)

Attività metallurgiche diverse dal ferro (4%)

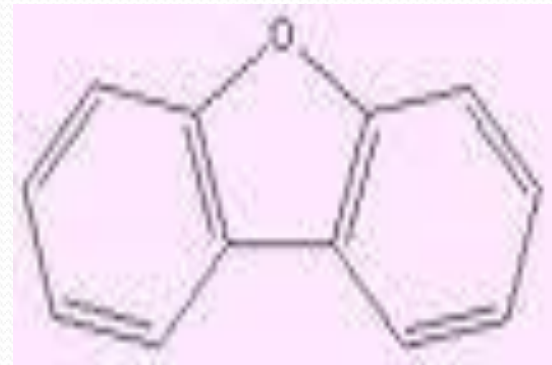
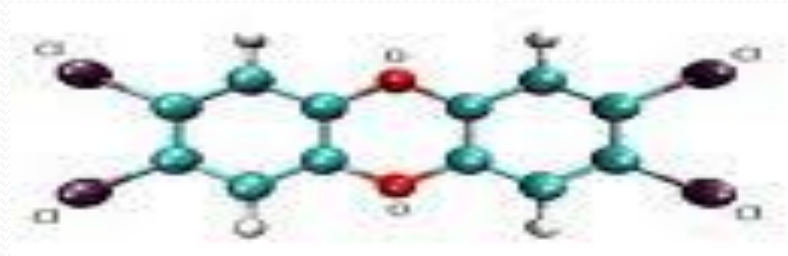
incendi

Traffico

preparazione industriale di erbicidi clorofenossilici (acido 2,4,5 triclorofenossiacetico)

Con il termine Diossine si indica un gruppo di 75 congeneri di policlorodibenzodiossine (PCDD)

135 congeneri di policlorodibenzofurani (PCDF), 17 dei quali hanno rilevanza tossicologica.

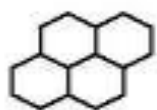


IPA o PAH (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)

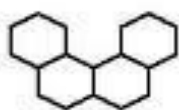
traffico autoveicolare (emissioni dagli scarichi dei motori a diesel e a benzina)
processi industriali
catrame
fumo esalato
combustione incompleta del carbone o del legno
fumo delle sigarette
superficie di alimenti affumicati

Gli IPA sono altamente lipofili. Gli IPA con più di quattro anelli si trovano nell'ambiente generalmente legati a sostanze particellari. Gli IPA sono comuni inquinanti dell'atmosfera. Gli IPA contenenti quattro anelli, o un numero inferiore, in genere rimangono in forma gassosa quando vengono immessi nell'atmosfera. Dopo aver stazionato meno di 24 ore nell'aria esterna, di solito vengono degradati attraverso una sequenza di reazioni radicaliche che hanno inizio con la addizione di un radicale OH.

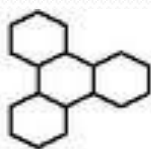
Gli IPA con più di 4 anelli non permangono a lungo nell'atmosfera, ma tendono a venire adsorbiti su particelle di fuliggine o di cenere. I gas ed il particolato emessi dagli scarichi degli autoveicoli a motore diesel, contengono non solo IPA, ma anche alcuni composti derivati che presentano il nitro-gruppo, NO_2 , come sostituito. Questi composti sono ancora più cancerogeni degli IPA corrispondenti. Questi si formano nei motori per reazione dell'IPA corrispondente con i radicali NO_2 ed N_2O_4 .



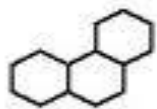
Pyrene



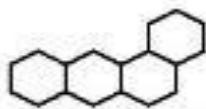
Benzo[c]phenanthrene



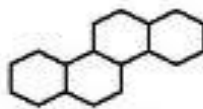
Triphenylene



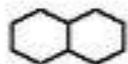
Phenanthrene



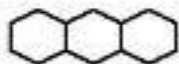
Benzo[a]anthracene



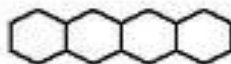
Chrysene



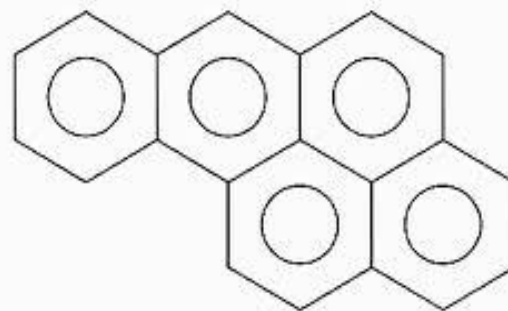
Naphthalene



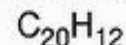
Anthracene



Tetracene



Benzopyrene



INQUINANTI INDOOR

- 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 .// *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)

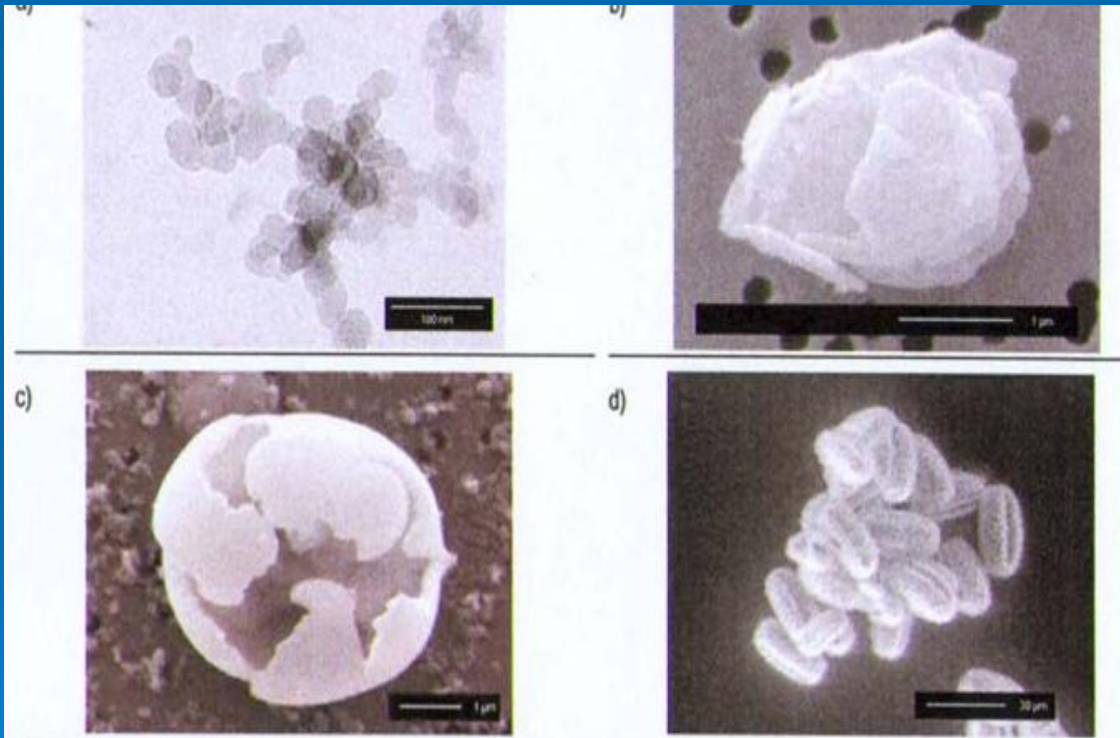
- Particolato Aerodisperso (PM, *Particulate Matter*) è costituito da un insieme di particelle molto piccole (aerosol) presenti nell'atmosfera. che a causa della loro forma e bassa densità restano sospese in aria”
- Il particolato viene generalmente classificato a seconda del diametro aerodinamico degli 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

- Le principali sorgenti di particolato negli ambienti confinati sono derivati da apparati 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.

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)



SINERGIA

INTERAZIONI CHIMICHE TRA OZONO VOC E PM 2,5

- la ricerca di inquinanti aerodispersi collegabili alle attività svolte. Le risultanze di queste analisi dimostrano l'inesistenza del rischio chimico collocandosi i valori ad ordini di grandezza inferiori ai TLV
- IL rilevamento in piccole quantità di molteplici sostanze, induce spesso i responsabili della valutazione del rischio chimico a classificare l'ambiente ad un livello di rischio basso si determina una sottostima del rischio perché non si tiene conto di quanto previsto dalla norma circa la valutazione degli **effetti combinati di più agenti pericolosi**. degli effetti sinergici
- Alcune di esse possono anche formarsi come prodotti secondari dalle più diverse reazioni (sintesi, ossidazione, ciclizzazione, epossidazione, alchilazione ecc...)
- dati di epidemiologia molecolare, dati sperimentali in vivo e in vitro ci portano ad ipotizzare che negli ambienti indoor 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 più reattivi)

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 più 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.)
- A seguito della entrata in vigore (1° giugno 2007) del regolamento REACH (CE) N. 1907/2006 sono state sviluppate, nell'ambito dei REACH Implementation Projects (RIP), le linee guida per l'applicazione di tale regolamento destinate sia alle Autorità Competenti sia all'Industria

INTERAZIONI CHIMICHE TRA OZONO VOC E PM 2,5

- L' Ozono O_3 è una forma allotropica dell'ossigeno si forma per azione delle cariche elettriche o dei raggi ultravioletti sull'ossigeno biatomico O_2
- 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 mouquet 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' O_3 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](#), [Lioy 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 O_3)
- 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)

Basi molecolari della SBS

- in sintesi si realizzerebbero nell'indoor condizioni per l'innescò 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](#))
- 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

Modello di sindrome ambientale è la ME/CFS -Sensibilità chimica multipla

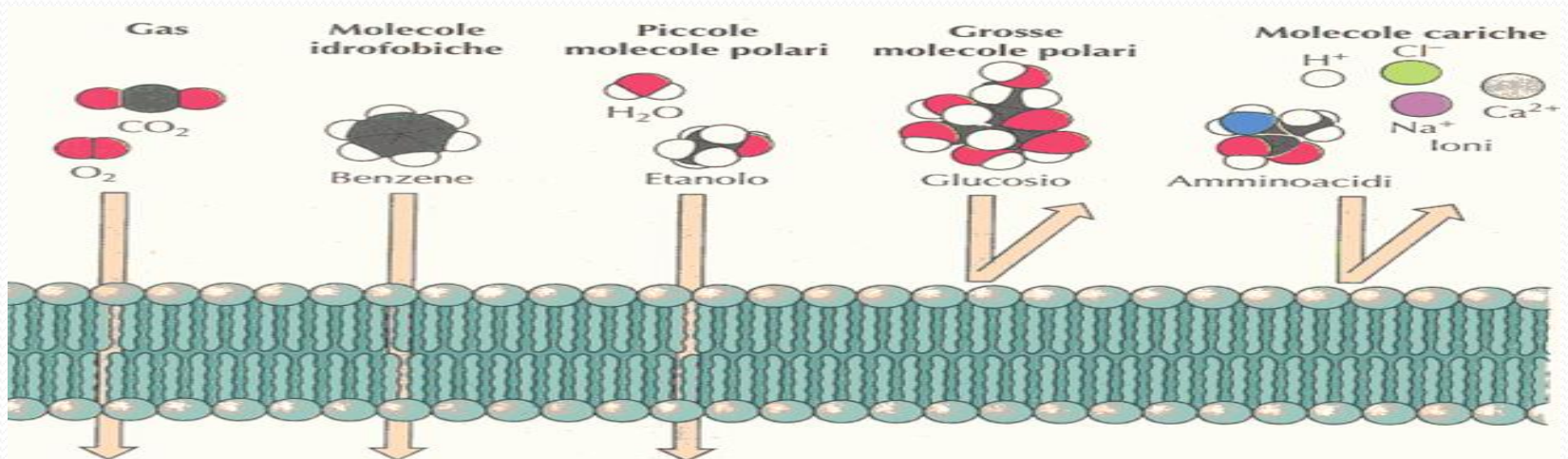
- La "sensibilità chimica multipla" *Multiple Chemical Sensitivity*, è una sintomatologia descritta per la prima volta negli Stati Uniti a metà degli anni 80'.
- E' una sindrome immuno-neuro tossica simile, per certi versi, all'allergia e molto spesso scambiata con essa, poiché i sintomi appaiono e scompaiono con l'allontanamento dalla causa scatenante.
- È 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.
- Le persone colpite presentano diversi gradi di morbidità che vanno da un leggero malessere ad una sintomatologia grave. I sintomi sono aspecifici e multipli ed interessano vari sistemi fisiologici: apparato respiratorio, cardiocircolatorio, digerente, tegumentario; sistema neurologico; sistema muscolo scheletrico ed endocrino-immunitario.
- La sensibilità chimica multipla è stata ufficialmente riconosciuta dalla Germania Austria ed è inclusa ora nella edizione della Classificazione Internazionale delle Malattie dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, ICD-10, sotto il codice T 78.4. l'"allergia, altrimenti non specificata".

Studi di epidemiologia molecolare sperimentali in vivo e in vitro evidenziano comuni meccanismi biomolecolari di danno cellulare

- l' ipotesi patofisiogeneetica dello stress ossidativo-nitrosativo come meccanismo centrale nella MCS è stato verificato da numerosi studi sperimentali
- In tale sindrome in soggetti suscettibili (polimorfismi del Dna) per meccanismi epigenetici si determinano disfunzioni enzimatiche , disfunzioni mitocondriali secondarie , uno squilibrio del "neuro-endocrine-immune cross talk " con danni multi organo :
- disfunzioni immunitarie (intolleranze ambientali, malattie autoimmuni , broncoreattività , dermatiti)
- endocrine (disfunzioni Tiroidee)
- riproduttive (endometriosi) DISTURBI NEUROLOGICI nel bambino -esposizione in utero)
- effetti neurologici (STANCHEZZA CRONICA ,FIBROMIALGIA ,ELETTOSENSIBILITA' ,IPEROSMIA)
- Disturbi gastrointestinali (aumentata permeabilità intolleranze alimentari

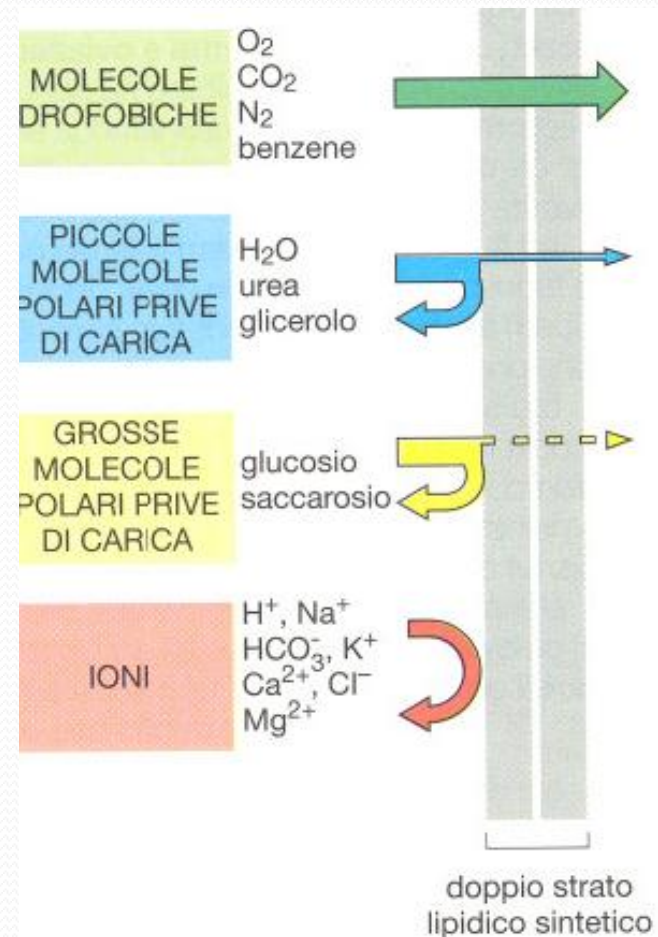
BASI GENETICHE EPIGENETICHE DELLA SUSCETTIBILITA' INDIVIDUALE TOSSICOCINETICA

- **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.



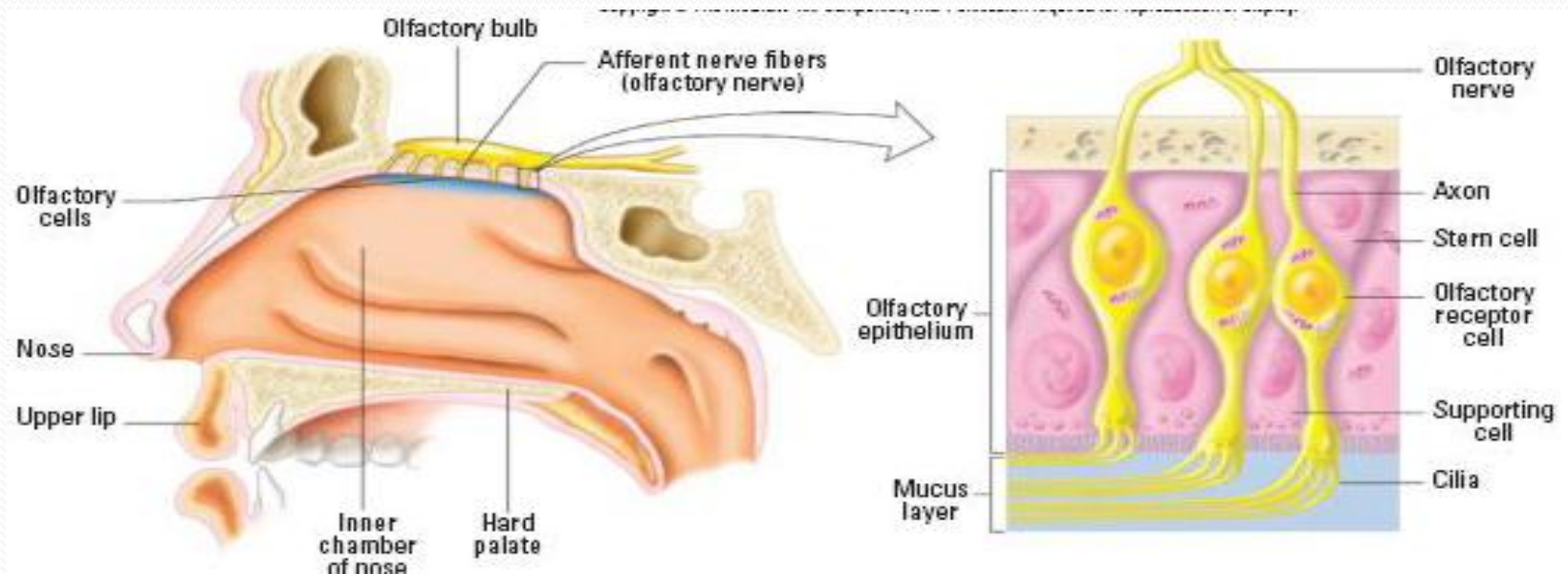
ASSORBIMENTO

- 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 Tialve H **uptake of cobalt from the nasal mucosa into the brain via olfactory pathways in rats** *Toxicol Lett.* 2003)

- L'istillazione intranasale di ultrafine carbon black determina nel cervello, bulbo olfattivo di ratti una induzione di citochine , chemiochine 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)

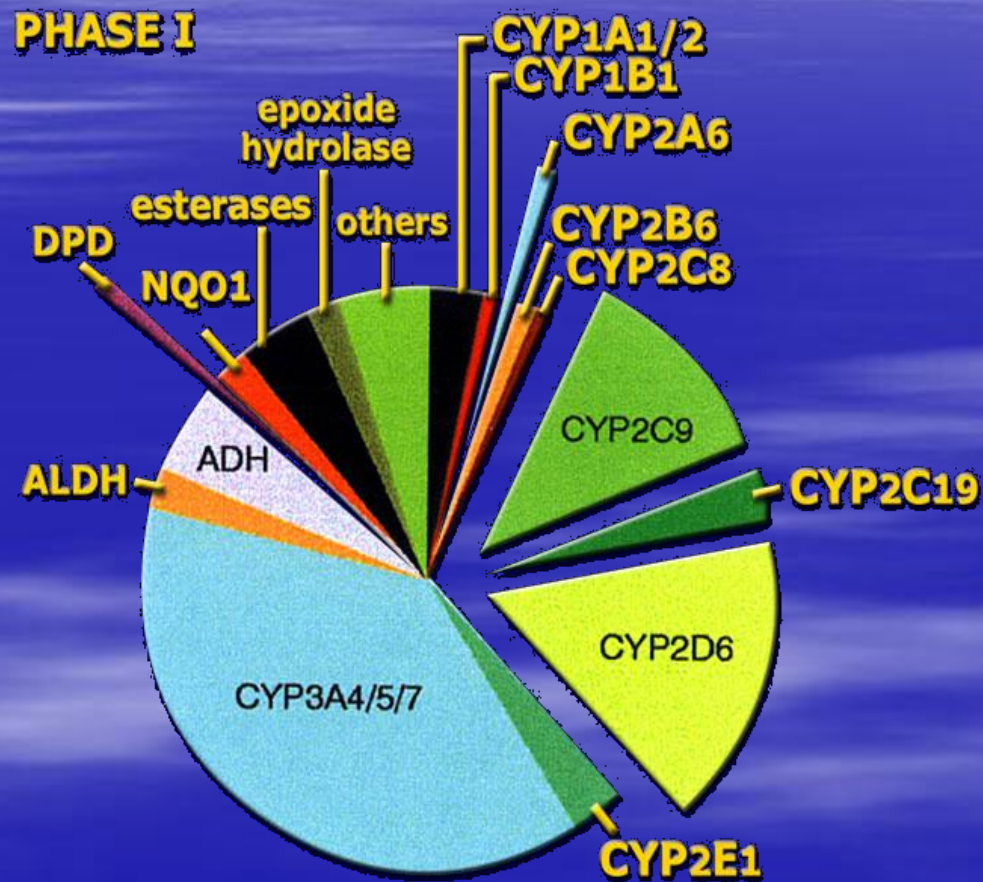
Tin-Tin-Win -Shwe, Dai Mitsushima, Shoji Yamamoto Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure *Toxicology and Applied Pharmacology*, September 2007

Sharma HS Sharma A Nanoparticles aggravate heat stress induced cognitive deficits, blood-brain barrier disruption, edema formation and brain pathology. *Prog Brain Res.* 2007)

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



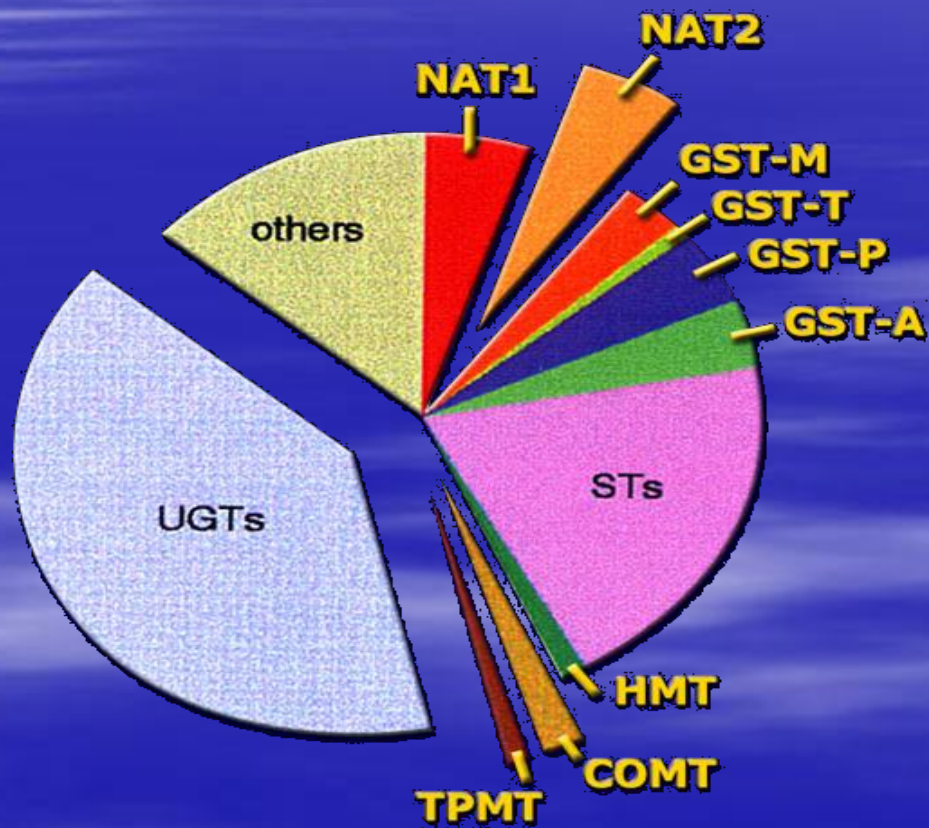
REAZIONE DELLA FASE 1

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 glutathione ,coniugazione con aminoacidi (glicina, taurina, acido glutammico)

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

A titolo esemplificativo lo styrene viene ossidato styrene 7-8 oxide dal citocromo p450 monoossigenasi questo intermedio è metabolizzato dall'epossido idrolasi (EH) e glutathione 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.)

FASE 3 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) linfociti T, linfociti NK e granulociti 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.

a livello della *barriera ematoencefalica*, in grado di estrarre farmaci e composti xenobiotici lipofili, riducendone in tal modo l'accumulo a livello del SNC.

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.

Variazioni nell'espressione della glicoproteina P, abcc1 ,abcc2 derivate dal polimorfismo genetico,o da fattori epigenetici siano fonti di variabilità interindividuale nei meccanismi protettivo contro la tossicità degli xenobiotici.

stress ossidativo mitocondriale

- meccanismo centrale nella malattie ambientali MCS/CFS è stato verificato da numerosi studi sperimentali. Attraverso l'ingegneria genetica, le varianti di *Drosophila melanogaster* che super esprimono Cu/ZnSOD e catalasi presentano un aumento della durata della vita, mentre le varianti con ridotta attività mostrano una diminuzione. L'inattivazione della SOD mitocondriale (MnSOD) nei topi, ne provoca la morte nella prima settimana di vita, mentre l'inattivazione della SOD citosolica ed extracellulare (Cu/ZnSOD), ha effetti più lievi.
- Uno stress ossidativo mitocondriale sembra essere correlato a neurodegenerazione, ischemia, aterosclerosi, artriti. **(Mitochondrial redox control of matrix metalloproteinases. Nelson KK, Melendez JA. 2004 Free Radic Biol Med. 2004)**
- In diverse malattie degenerative come il Parkinson e l'Alzheimer la sclerosi laterale amiotrofica il danno ossidativo mitocondriale sembra svolgere un ruolo importante **(Fong CS, Wu RM. Pesticide exposure on southwestern Taiwanese with MnSOD and NQO1 polymorphisms is associated with increased risk of Parkinson's disease Clin Chim Acta. 2007 Huang YS, Su WJ, Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H:quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury.. J Hepatol. 2007)**
- Diverse sono le evidenze scientifiche del ruolo chiave del danno ossidativo mitocondriale nell'invecchiamento. L'invecchiamento sarebbe dovuto a mutazioni del mt-dna indotte dalle varie specie radicaliche non compensate dal sistema antiossidante cellulare e quindi in definitiva ad una diminuzione della produzione energetica cellulare.

Il deficit della SOD mitocondriale associato al deficit delle catalasi e deficit di enzimi metabolizzanti xenobiotici della fase 1 e 2 è correlato a patologie multi-organo, rischio di neoplasie e malattie degenerative.

STRESS OSSIDATIVO

- Una delle definizioni più comuni dello **stress ossidativo** è quella dello sbilanciamento fra la normale e fisiologica produzione di radicali e specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto da parte della cellula e la presenza di antiossidanti endogeni.
- Sia i ROS sia gli RNS rientrano in un sistema di equilibrio bilanciato tra ossidanti/antiossidanti che permette di mantenere l'omeostasi cellulare
- Alcuni radicali sono prodotti fisiologicamente dall'organismo (bio-radicali) e sono essenziali alla vita, essendo coinvolti nella catalisi enzimatica e in processi importanti che vanno dalla regolazione dell'embriogenesi al funzionamento delle cellule neuronali:

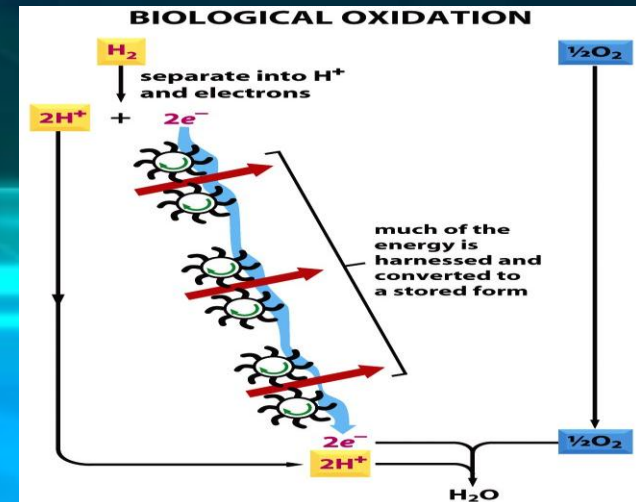
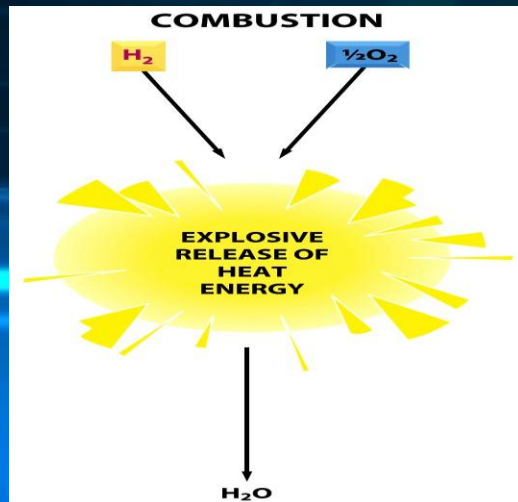
STRESS OSSIDATIVO

• PREMESSE DI BIOENERGETICA

- **ossidazione equivale a perdita di elettroni**
 - **nella riduzione gli atomi acquistano elettroni**
 - se una certa reazione comporta ossidazione di una specie (atomo, ione molecola, radicale) si deve accompagnare la riduzione di un'altra specie , l'elettrone rimosso da una molecola deve passare ad una altra.
 - Una reazione ossido riduttiva (**reazione redox**) coincide con l'insieme di una ossidazione e di una riduzione .
 - **AGENTE OSSIDANTE È LA SPECIE CHE CAUSA OSSIDAZIONE**
 - NEL CORSO DI UNA REAZIONE REDOX PERTANTO L'AGENTE OSSIDANTE È UNA SPECIE CHE CONTIENE UN ELEMENTO CHE ACCETTA ELETTRONI LIBERATI DALLA SPECIE CHE SI OSSIDA E QUINDI SI RIDUCE IN ALTRE PAROLE **nelle reazioni di ossidoriduzione l'agente ossidante è quello che si riduce**
 - **LA RIDUZIONE A SUA VOLTA È CAUSATA DA UN AGENTE UN AGENTE RIDUCENTE , SPECIE CHE CONTIENE UN ELEMENTO CHE SUBISCE OSSIDAZIONE CIOÈ FORNISCE ELETTRONI.**
-
- **I trasferimenti di elettroni forniscono la maggior parte dell'energia per gli esseri viventi:**
 - **i trasferimenti di elettroni rilasciano una grande quantità di energia libera** .Tutte le trasformazioni energetiche che avvengono in natura seguono le leggi della termodinamica
-
- Una reazione di ossidoriduzione è un trasferimento di elettroni e nella cellula vi sono tre modi principali di farlo:
 - 1. Trasferimento diretto di elettroni da una coppia redox. Esempio: $\text{Cu}^{2+} / \text{Cu}^+$ cede un elettrone alla coppia redox $\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$ secondo 'equazione:
$$\text{Cu}^+ + \text{Fe}^{3+} \longrightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{Fe}^{2+}$$
 - 2. Trasferimento di due atomi di idrogeno ricordando che essi sono in definitiva composti da due elettroni e due protoni (H^+) Un substrato ridotto lo possiamo rappresentare legato a due atomi di H ed è il donatore di protoni ed elettroni secondo lo schema:
$$\text{SH}_2 \longrightarrow \text{S} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+$$
 - SH_2 ha perso due atomi di H e si è ossidato in S. SH_2 può cedere gli elettroni ad un altro composto I che si riduce. $\text{SH}_2 + \text{I} \longrightarrow \text{S} + \text{IH}_2$
 - si parla di **substrato ridotto** (SH_2), **substrato ossidato** (S), **intermedio ridotto** (IH_2) ed **intermedio ossidato** (I)
 - Trasferimento di elettroni sottoforma di **ione idruro** H^- formato da due elettroni e un protone. ($:\text{H}$)
 - **Gli enzimi che operano i trasferimenti di elettroni tramite trasferimenti di idrogeno di chiamano deidrogenasi e sono fondamentali nel metabolismo energetico (e non solo). I loro coenzimi FAD e NAD^+ saranno in grado di accettare rispettivamente 2 atomi di H come visto al punto 2 e uno ione idruro come visto al punto 3.**

l'ossigeno ha un'alta affinità per gli elettroni, rilascia una grande quantità di energia libera quando si riduce formando acqua. Così, l'evoluzione della respirazione cellulare in cui O_2 è convertito ad acqua, ha permesso agli organismi di imbrigliare molta più energia di quella che può derivare dal metabolismo anaerobio. La capacità dei sistemi biologici di usare O_2 in questo modo richiede però una chimica molto sofisticata. Possiamo tollerare O_2 nell'aria che respiriamo perché l'ossigeno ha problemi a catturare il suo primo elettrone; questa reazione è controllata da catalasi enzimatiche.

Una volta che O_2 ha catturato il primo elettrone diventa O_2^- radicale superossido pericolosamente reattivo e assume rapidamente altri tre elettroni dovunque li riesce a trovare. La cellula può usare O_2 per la respirazione soltanto perché la citocromossidasi si lega all'ossigeno in uno speciale centro bimetallico dove rimane bloccato fra un atomo di ferro legato a eme e un atomo di rame fino a che non abbia assunto un totale di quattro elettroni. Soltanto allora i due atomi di ossigeno della molecola di ossigeno possono essere rilasciati in sicurezza come due molecole di acqua.



Oltre il 90% dell'ossigeno introdotto nel corpo umano viene utilizzato dalla citocromo ossidasi che catalizza la reazione conclusiva rappresentata in figura. La citocromo ossidasi, similmente ad altri enzimi che utilizzano l'O₂, mostra metalli di transizione nel sito attivo.

I metalli di transizione hanno stati di ossidazione variabili e perciò sono in grado di trasferire singoli elettroni facilitando le reazioni di ossido-riduzione

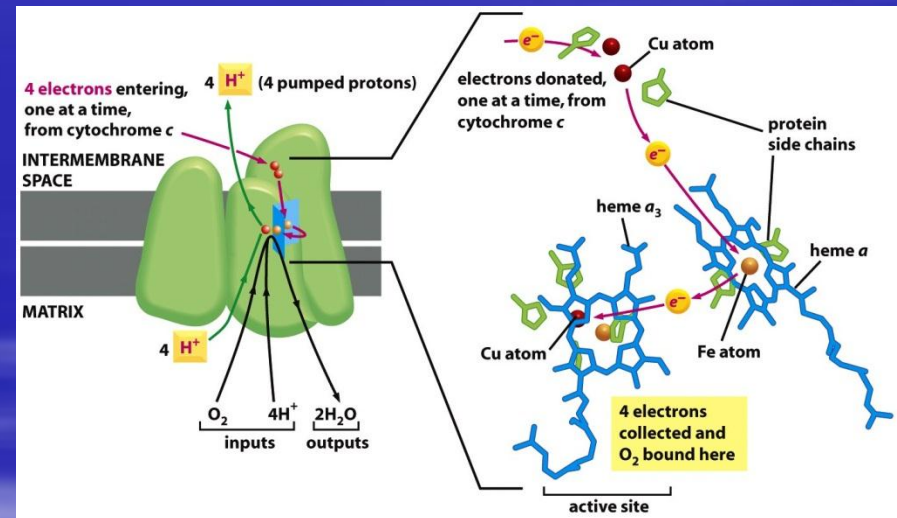
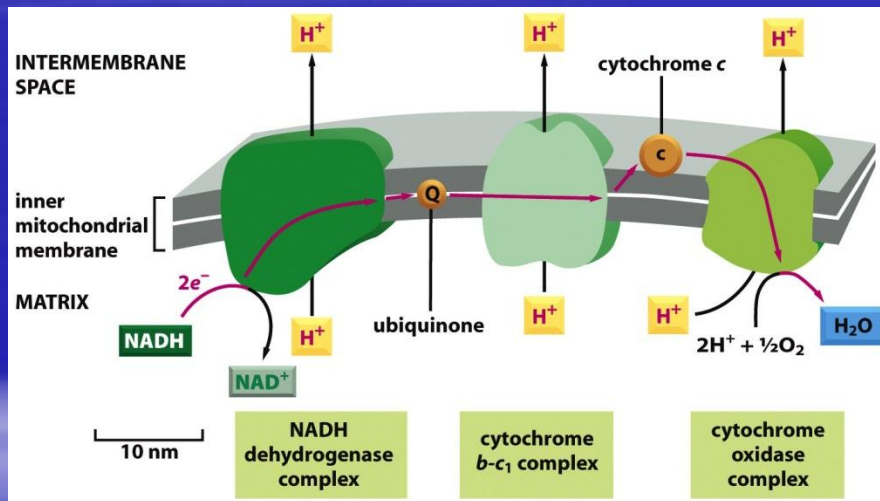
I radicali liberi sono per definizione specie chimiche che hanno un elettrone spaiato nell'orbitale più esterno. Questa condizione rende la molecola instabile, dal momento che cercherà di acquistare un elettrone a spese di un'altra molecola, per acquisire un assetto elettronico stabile

Sia i ROS sia gli RNS rientrano in un sistema di equilibrio bilanciato tra ossidanti/antiossidanti che permette di mantenere l'omeostasi cellulare

L'O₂- ANIONE SUPERPEROSSIDO prodotto enzimaticamente in numerosi processi cellulari, ma anche non-enzimaticamente e in grossa quantità (circa 0,5 mMoli al secondo) durante la produzione di ATP nel metabolismo aerobico dei mitocondri. Tuttavia, la concentrazione intracellulare di O₂⁻ è mantenuta a livelli sub-nanomolari dall'enzima SOD.

Radicale ossidrilico: OH• radicale ossidrilico (OH•) che si forma dalla reazione tra il ferro bivalente e il perossido di idrogeno attraverso la reazione di Fenton. Anche il rame (Cu) può reagire con l'H₂O₂ per formare OH•

OSSIGENO SINGOLETTO 1 O₂



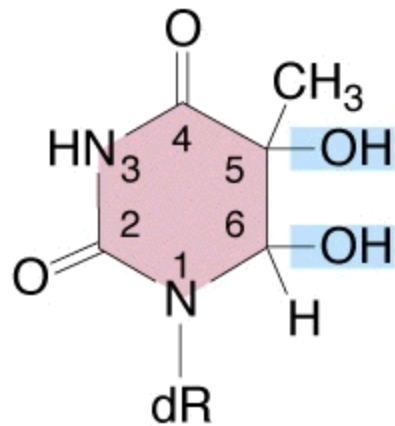
Ossido nitrico

- L'NO è una sostanza abbastanza ubiquitaria prodotta a partire dall'amminoacido L-arginina in una reazione catalizzata dall'**enzima ossido nitrico sintetasi**. Quest'ultimo esiste in numerose isoforme,
- NOS neuronale (detta NOS 1)
- NOS inducibile (detta i NOS o NOS 2)
- NOS endoteliale (detta e NOS o NOS 3)
- alcune sono costituite da Ca^{++} -dipendenti, (cellule endoteliali, piastrine, sistema nervoso), altre inducibili Ca^{++} -indipendente e in grado di produrre livelli micromolari di NO^\bullet . La sintesi di questo enzima viene attivata in quasi tutti i tessuti durante la difesa dalle infezioni o per gravi traumi come nell'ischemia e nell'ipossia e, in generale, in tutte le condizioni infiammatorie.
- NO è un gas diffusibile ad emivita brevissima dell'ordine di secondi in grado di diffondere attraverso le membrane e di reagire con una varietà di bersagli:
- modulare l'attività della guanilil-ciclasa che porta alla formazione del II messaggero cGMP (nella muscolatura liscia cGMP causa dilatazione)
- reagisce con O_2 in soluzione acquosa producendo ioni nitrati (NO_3^-) e nitriti NO_2^-
- in presenza di ione superperossido O_2^- l'NO dà luogo a perossinitrito (ONOO^-) specie chimica molto tossica
- Nei sistemi biologici, l'NO agisce come un importante messaggero intra- ed inter-cellulare regolando numerosissime funzioni, *in primis* quella dell'endotelio vascolare. Infatti, in seguito ad adeguata stimolazione (meccanica o chimica), le cellule endoteliali producono l'NO che, in parte, diffonde nel compartimento ematico, riducendo l'aggregabilità delle piastrine e l'adesività dei leucociti alle pareti dei vasi sanguigni, e, in parte, raggiunge la sottostante muscolatura liscia vascolare inducendone il rilasciamento. I conseguenti effetti anti-aggreganti, anti-infiammatori ed anti-ipertensivi sono ritenuti di grande importanza nella prevenzione dell'aterosclerosi. D'altronde, i famosi nitriti esteri e la stessa nitroglicerina sublinguale, ampiamente usati come anti-anginosi decenni prima della "scoperta" dell'NO, sono, in realtà, dei "donatori" di questo mediatore ed è relativamente recente la messa a punto delle nitro-aspirine, derivati "nitrati" dell'acido acetilsalicilico in grado di rilasciare NO a livello periferico. Rimanendo nell'ambito della farmacologia cardiovascolare, giova anche sottolineare che il sildenafil agisce "prolungando" la durata d'azione dell'NO a livello dei corpi cavernosi del pene, contribuendo in questo modo a migliorare la funzione erettile, variamente compromessa nell'impotenza maschile
- Oltre all'effetto primario sull'endotelio, all'NO è riconosciuto un ruolo determinante di mediatore biochimico in numerose funzioni, a **livello cerebrale** (es. controllo dell'apprendimento e della memoria), gastrointestinale (modulazione delle secrezioni e della motilità), respiratorio (modulazione del tono della muscolatura liscia bronchiale), renale (autoregolazione del flusso ematico), e così via.
- All'NO, in quanto radicale, è attribuita un'importante funzione di difesa nei confronti delle infezioni batteriche e, probabilmente, nel controllo della crescita dei tumori. A questo proposito occorre aggiungere, comunque, che condizioni di **aumentato stress ossidativo** – es. eccessiva produzione di anione superossido – comportano la conversione dell'NO in **perossinitrito**, una forma radicalica molto tossica.
- Dopo che ha agito, l'NO viene trasformato in una serie di derivati, quali i nitriti ed i nitrati, che si accumulano, in funzione della quantità del mediatore primario prodotto, nel sangue ed in altri fluidi extracellulari per poi essere definitivamente allontanati dall'organismo attraverso le urine. Infatti, numerosi studi sperimentali e clinici hanno documentato che i **livelli plasmatici ed urinari di nitriti/nitrati correlano abbastanza bene con la produzione "endogena" di NO**,

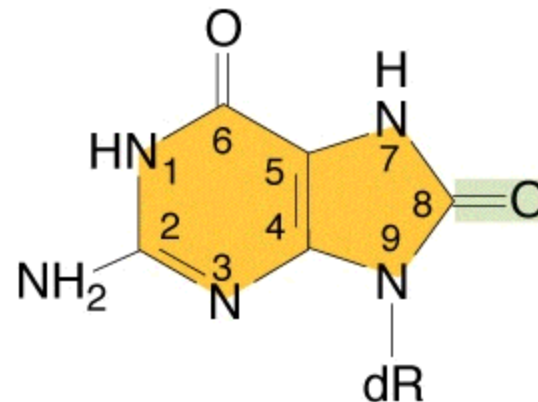
STRESS OSSIDATIVO

EFFETTI SUGLI ACIDI NUCLEICI:

idrossilazione delle basi per addizione del radicale OH^\bullet o sottrazione di un H dalla molecola saccaridica.



Thymidine glycol

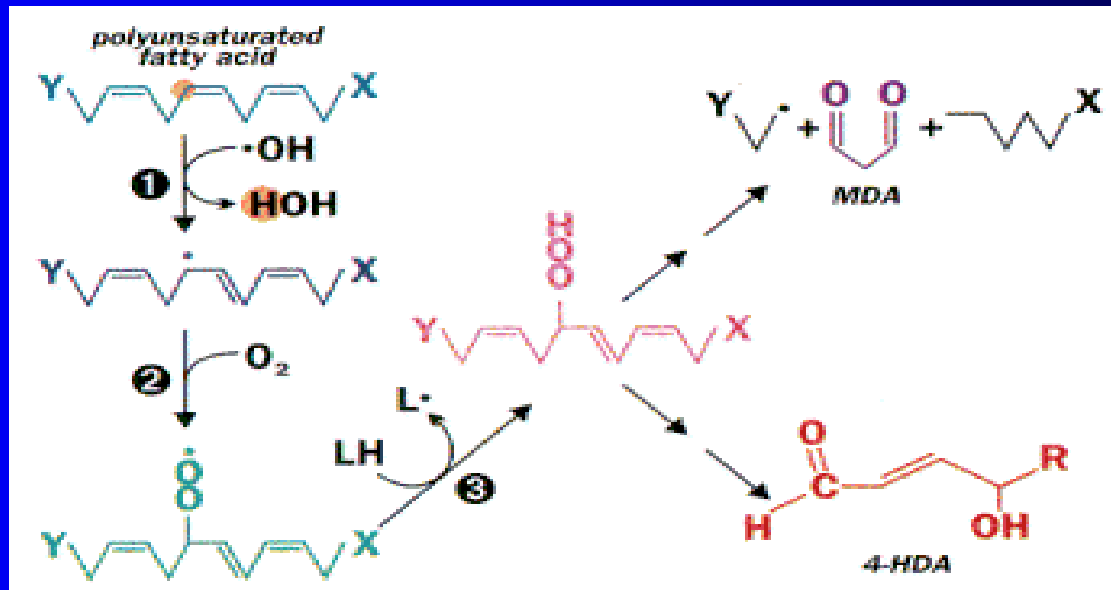


8-Oxo-7-hydrodeoxyguanosine
(8-oxodG)

STRESS OSSIDATIVO

PEROSSIDAZIONE LIPIDICA

- E' la classe di biomolecole più suscettibile all'attacco dei radicali
- L'ossidazione 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•



Difese antiossidanti endogene

Gli antiossidanti si possono classificare in antiossidanti primari e secondari. Questa classificazione si basa non su un criterio di importanza, ma di sequenza temporale di azione. Fra i primari vi sono gli enzimi che catalizzano le trasformazioni dei ROS (SOD, CAT e GPx), le molecole chelanti i metalli (metallotioneine) e le molecole in grado di agire come scavenger dell'ossigeno singoletto (1O_2). Gli antiossidanti secondari hanno, invece, la funzione di implementare le difese antiossidanti ripristinando, per esempio, il pool dei tioli oltre ad agire di per se come scavenger dei radicali liberi, fra questi ricordiamo: le vitamine A ed E, la vitamina C, il coenzima Q, e i

SOD superossido dismutasi

sono enzimi largamente rappresentati e contengono al loro interno un metallo (metalloproteine). Mitochondri e batteri contengono manganese (MnSOD), mentre le cellule eucariote rame e zinco (CuZnSOD).

tipi di SOD. .

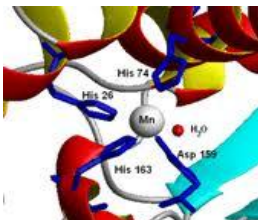
Un primo tipo di SOD, **rame e zinco**, citoplasmatico.

Un secondo tipo di SOD che contiene ioni **manganese** nei mitochondri, il punto più a rischio per la sintesi accidentale di superossido,

Un terzo tipo, che contiene ioni **rame e zinco** extracellulare per contrastare i molecole di superossido formate prima che l'ossigeno entri nella cellula.

La famiglia delle superossido dismutasi (SOD) sono in grado di convertire due molecole di superossido in una di acqua ossigenata e una di ossigeno:

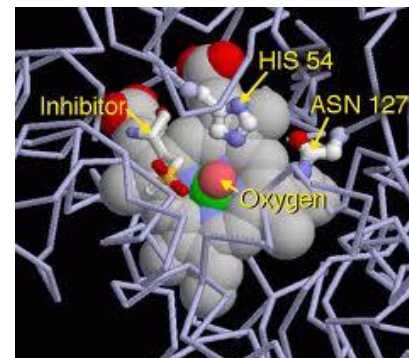
SOD $O_2^- + O_2^- \rightarrow H_2O_2 + O_2$



CATALASI

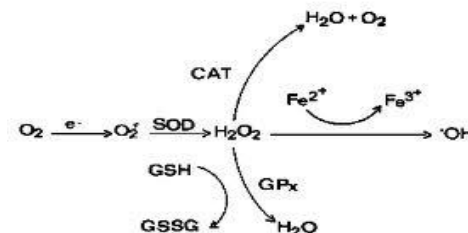
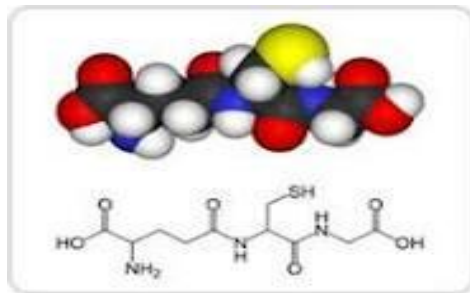
- L'acqua ossigenata proveniente dall'azione della SOD e dai mitochondri viene eliminata dall'efficientissimo sistema della catalasi (oltre 40.000 cicli/secondo), una eme-proteina che catalizza la scissione del perossido d'idrogeno in acqua e ossigeno.

- $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$



GLUTATIONE ED ENZIMI AD ESSO CORRELATI

- Il glutathione è tra i più importanti sistemi antiossidanti endogeni
- possiede nella sua struttura dei gruppi tiolici. il glutathione si trova ubiquitariamente esiste sia in forma ridotta, il GSH, che ossidata, il GSSG, e partecipa alle reazioni redox attraverso l'ossidazione dei gruppi tiolici.
- Nelle normali condizioni redox cellulari la molecola si trova principalmente in forma ridotta ed è localizzata soprattutto nel nucleo,
- nel reticolo endoplasmatico e nei mitocondri;
- è possibile trovare una forma legata covalentemente a proteine, attraverso un processo detto glutathionilazione (Huang et al., 2002a), grazie al quale può agire come cofattore enzimatico in meccanismi di difesa cellulare (Pompella et al., 2003).
- Il glutathione può agire direttamente nei confronti dei radicali liberi
- oppure può funzionare da substrato per la GST glutathione perossidasi .
- Il glutathione è sintetizzato enzimaticamente dalla gammaglutamilcisteina sintetasi (γ GCS), l'enzima chiave (Lu, 1998), e dalla glutathione sintetasi.
- fattori importanti nella sintesi ex novo del GSH sono la stessa concentrazione di GSH che inibisce, attraverso un meccanismo a feed-back, l'attività della γ GCS e la disponibilità di cisteina (amminoacido fondamentale della molecola)



Glutathione GPX GST NQO1

- In presenza di stress ossidativo la concentrazione di GSSG, potenzialmente citotossico, aumenta a causa della avvenuta riduzione dei perossidi, oppure come risultato dell'eliminazione di radicali liberi, mentre quella di GSH diminuisce rapidamente.
- Queste variazioni del rapporto GSH/GSSG hanno come importanti conseguenze il fatto che lo stato redox dei tioli cellulari viene modificato, attivando alcune risposte trascrizionali antiossidanti, e che, poiché GSSG viene degradato preferenzialmente all'esterno della cellula, aumenta la richiesta intracellulare di sintesi ex novo di GSH.
- Il meccanismo che si contrappone al danno ossidativo coinvolge la glutathione perossidasi (GPx), dalla glutathione S-transferasi (GST) e dalla glutathione reduttasi (GR).
- Le GPx costituiscono una famiglia di enzimi tessuto-specifici (Ursini et al., 1995) in grado di ridurre numerosi idroperossidi organici ed inorganici ai corrispondenti composti idrossilati, utilizzando GSH
- Le glutathione perossidasi sono ubiquitarie. Ad esempio, nel tratto gastrointestinale l'isoenzima forma una barriera nei confronti degli idroperossidi derivati dal metabolismo di xenobiotici tossici o dalla dieta. La GPx dei fosfolipidi sembra essere coinvolta nella protezione delle biomembrane contro il danno ossidativo.
- La glutathione perossidasi riduce l'acqua ossigenata a spese del glutathione ridotto.
- $\text{GSH perossidasi} \quad \text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{G-SH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{G-S-S-G}$
- Le GST comprendono tre famiglie di enzimi: possono essere citosoliche, mitocondriali e microsomiali, e sono in grado di detossificare gli xenobiotici elettrofili nocivi, quali cancerogeni chimici ed inquinanti ambientali. Inoltre, rappresentano una protezione anche nei confronti di composti reattivi prodotti in vivo durante lo stress ossidativo dovuto all'ingestione di alimenti bruciati o contaminati da micotossine ed all'esposizione a sostanze inquinanti;
- agiscono inattivando chinoni, epossidi, aldeidi endogene insature ed idroperossidi (Hayes et al., 2005).
- Le GST possiedono queste funzioni protettive perchè sono in grado di catalizzare la coniugazione del GSH con i prodotti finali dell'ossidazione, e rappresentano perciò una seconda linea difensiva contro la numerosa varietà di sostanze tossiche prodotte nelle reazioni mediate dalle ROS.
- **la ricostituzione di GSH è un passaggio fondamentale nel metabolismo delle reazioni GSHdipendenti** (Rogers et al., 2004)
- NQO1 come enzima antiossidante: ruolo nel metabolismo dell'ubichinone e della vitamina E La riduzione dell'ubichinone ad opera della NQO1 rigenera l'ubichinolo, che possiede forti proprietà antiossidanti
- **Diana Doughertya, Seymour Garteb, Aaron Barchowskyb, Joe Zmudac, Emanuela Taioli NQO1, MPO, CYP2E1, GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and biological effects of benzene exposure—A literature review Toxicology Letters 2008**

Polimorfismi genetici modificano la tossicocinetica piombo e mercurio e xenobiotici

- 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 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 epigenetici 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 fase 3 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 da esposizione a xenobiotici
- **Polimorfismi genetici degli enzimi metabolici degli xenobiotici degli enzimi antiossidanti e riparatori del DNA**

C'è una crescente evidenza che alcuni polimorfismi genetici possono modificare la tossicocinetica piombo e mercurio

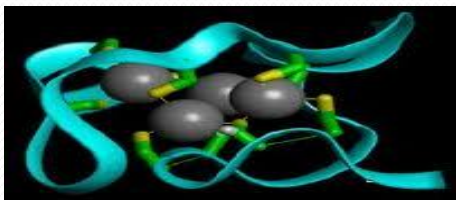
È stato dibattuto se anche dei moderati livelli di alcuni metalli pesanti nei bambini possano causare loro delle patologie (Pirkle et al., 1985; Fulton et al., 1987; Cavalleri, 1988; McMichel et al., 1988; Abbritti et al., 1989; Morisi et al., 1989; Factor-Litvak et al., 1999; Canfield et al., 2003; CDC, 2004)

C'è una crescente evidenza che alcune polimorfismi genetici modificare tossicocinetica piombo e mercurio.

La conoscenza dei fattori di suscettibilità modulante è importante. Entrambi i metalli sono ubiquitari ad alto potenziale tossico, in particolare per deterioramento neurologico durante l'infanzia (Grandjean and Landrigan, 2006; WiGLE e Lanphear, 2005).

metallotioneine

- Zeliha Kayaaltı , Vugar Aliyev, Tülin Söylemezoğlu The potential effect of metallothionein 2A -5 A/G single nucleotide polymorphism on blood cadmium, lead, zinc and copper levels Toxicology and Applied Pharmacology 2011
- Metallotioneine (MT) sono piccole proteine (6-7 kDa) di circa 60 aminoacidi.
- sono presenti in quattro isoforme (MT1-MT4). A causa del loro alto contenuto di cisteina regolano l'omeostasi del metallo, l'omeostasi soprattutto zinco e la protezione contro lo stress ossidativo. Ciò permette l'adattamento ad una varietà di stress chimici, funzioni neuroprotettive di MT1, MT2, MT3. Le concentrazioni citotossiche di cadmio e mercurio causano l'aumento dell'espressione genica delle metallotioneine (Scudiero et al., 1998; 2000; Sato e Kondoh, 2002), e delle heat shock proteins (Schroder et al., 1999; Somji et al., 1999),
- MT1 and MT2 sono direttamente inducibili in neuroni, astrocytes, in rat lung tissue, and human kidney (mRNA level)
- **elevati livelli di metallotioneine** mRNA sono indicative di aumento tissutale dei livelli di cadmio e altri metalli pesanti (alluminio, piombo, mercurio)
- MT1- and MT2-knockout mice show altered mercury distribution in target organs and higher susceptibility to neurobehavioral effects following mercury exposure



Associations di VDR, ALAD, HFE, and MT genotipi con livelli e tossicità da piombo

- portatori omozigoti ed eterozigoti di mutazione HFE accumulano più piombo
- **Keson Theppeang, MHS, Brian S. Schwartz, MD, Associations of Patella Lead With Polymorphisms in the Vitamin D Receptor, -Aminolevulinic Acid Dehydratase and Endothelial Nitric Oxide Synthase Genes** J Occup Environ Med. 2004
- Genetic background of lead and mercury metabolism in a group of medical students in Austria Claudia Gundacker Karl J. Wittmann, Martina Kukuckova, Gunter Komarnicki, Imrich Hikkel, Martin Gencik Environmental Research 109 (2009)
- Il recettore della vitamina D (VDR), il d-aminolevulinico deidratasi (ALAD) e la (HFE) emocromatosi gene sono potenziali candidati geni di suscettibilità, perché svolgono un ruolo significativo nella diffusione e distribuzione del piombo nel corpo.
- Il polimorfismo VDR ha mostrato di influenzare l'accumulo di piombo nelle ossa
- **Associazione di polimorfismi di GST, GCLC, (gamma-glutamylcysteine sintetasi) and MT con livelli e tossicocinetica del mercurio**
- GST, GCLC, and MT polymorphisms and mercury toxicokinetics
- Claudia Gundacker, Martin Gencik Markus Hengstschlager The relevance of the individual genetic background for the toxicokinetics of two significant neurodevelopmental toxicants: Mercury and lead Mutation Research 2010

MECCANISMI MOLECOLARI EPIGENETICI

Gli xenobiotici in un soggetto suscettibile interferiscono a diversi Livelli di controllo dell'espressione genica:

- Vi è una crescente evidenza della rilevanza dei meccanismi epigenetici nella fisiopatogenesi di molte Sindromi ambientali
- L'epigenetica è lo studio dei meccanismi che regolano l'espressione dei geni negli organismi viventi
- definizione di fenomeno epigenetico (**Ptashne e Gann , 2002**) "un cambiamento nello stato di espressione di un gene che non implica una mutazione , ma che è comunque ereditato (dopo la divisione cellulare) in assenza del segnale (o evento) che ha avviato questo cambiamento
- la epigenetica spiega come L'ambiente induce cambiamenti cellulari che si trasmettono alle cellule figlie (memoria cellulare) anche in assenza della condizione ambientale che le ha indotte senza modificare la sequenza nucleotidica del genoma
- Per spiegare la epigenetica in maniera semplice facciamo un esempio tratto dal lavoro Epigenetic regulation in Drosophila. **Lyko F, Beisel C, Marhold J, Paro R** Curr Top Microbiol Immunol. 2006

il moscerino della frutta ha gli occhi bianchi.

Se la temperatura alla quale sono allevati gli embrioni (di norma 25 °C) è portata per breve tempo a 37 °C, i moscerini che si sviluppano hanno gli occhi rossi. I figli di questi moscerini hanno anch'essi gli occhi rossi.

il fatto sorprendente è che il gene, cioè il DNA, che codifica il fattore "colore degli occhi" è rimasto tale e quale come era nei moscerini con gli occhi bianchi. non è stata modificata la sequenza del dna

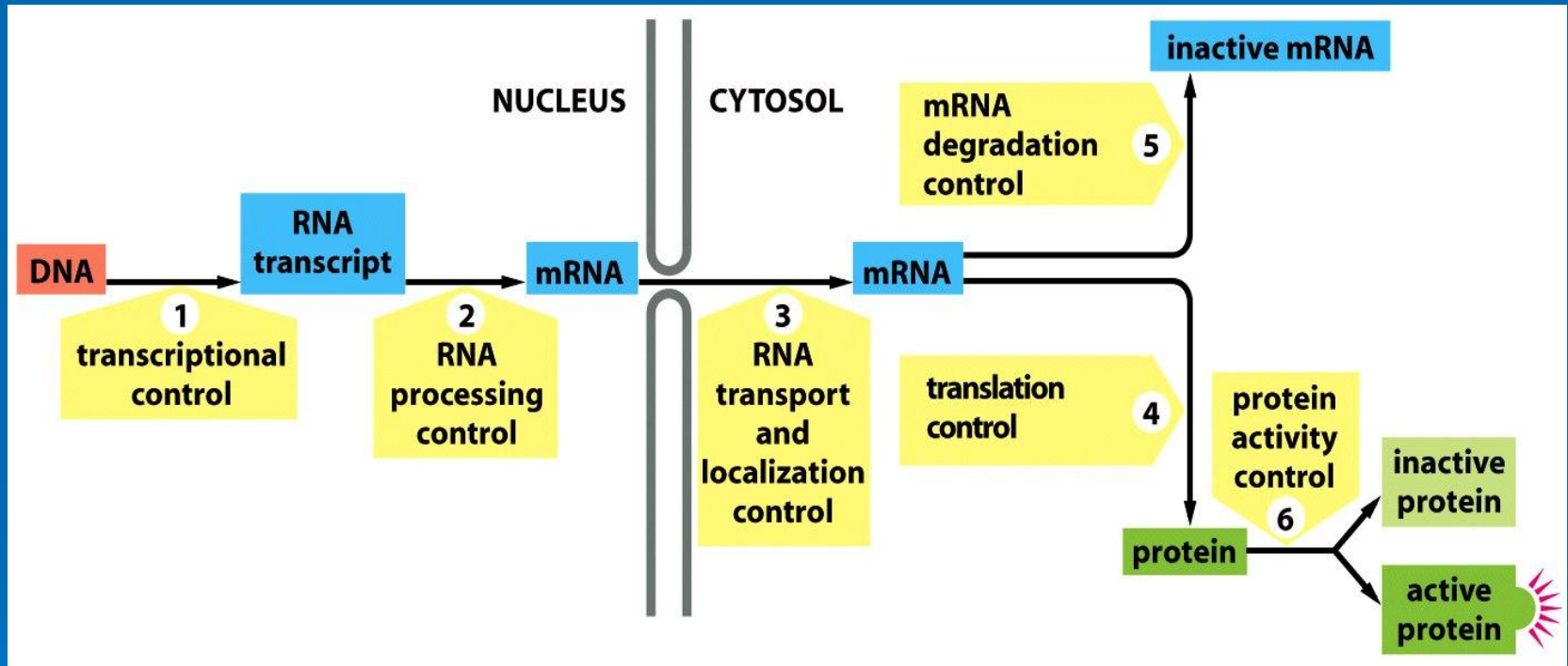
Si è avuto un cambiamento epigenetico che a livello molecolare consiste nella metilazione del DNA, con la modificazione degli istoni e il *pathway* dei piccoli RNA non codificanti. Si tratta, quindi, di processi dinamici in grado di rispondere ai segnali estrinseci di natura xeno biotica (es. abitudini alimentari, stili di vita) e a quelli intrinseci dell'organismo.

Le proteine istoniche che avvolgono il DNA se acetilate o metilate esse possono attivare o disattivare i geni.

Questa serie d'interazioni e modificazioni apporteranno alle cellule una memoria degli accadimenti che sarà ereditata anche dalle linee cellulari successive se è di tipo mitotico interessa l'individuo se l'azione tossica coinvolge la linea germinale (tipo meiotico) viene trasmesso a livello transgenerazionale.

L'epigenoma è in equilibrio dinamico e quindi suscettibile a continui cambiamenti nella risposta a xenobiotici ambientali possono agire a diversi livelli nell'attivare o bloccare i diversi *pathways* di *signaling*, che possono provocare alterazioni nella struttura della cromatina, oppure possono agire direttamente sulla "macchina enzimatica epigenetica".

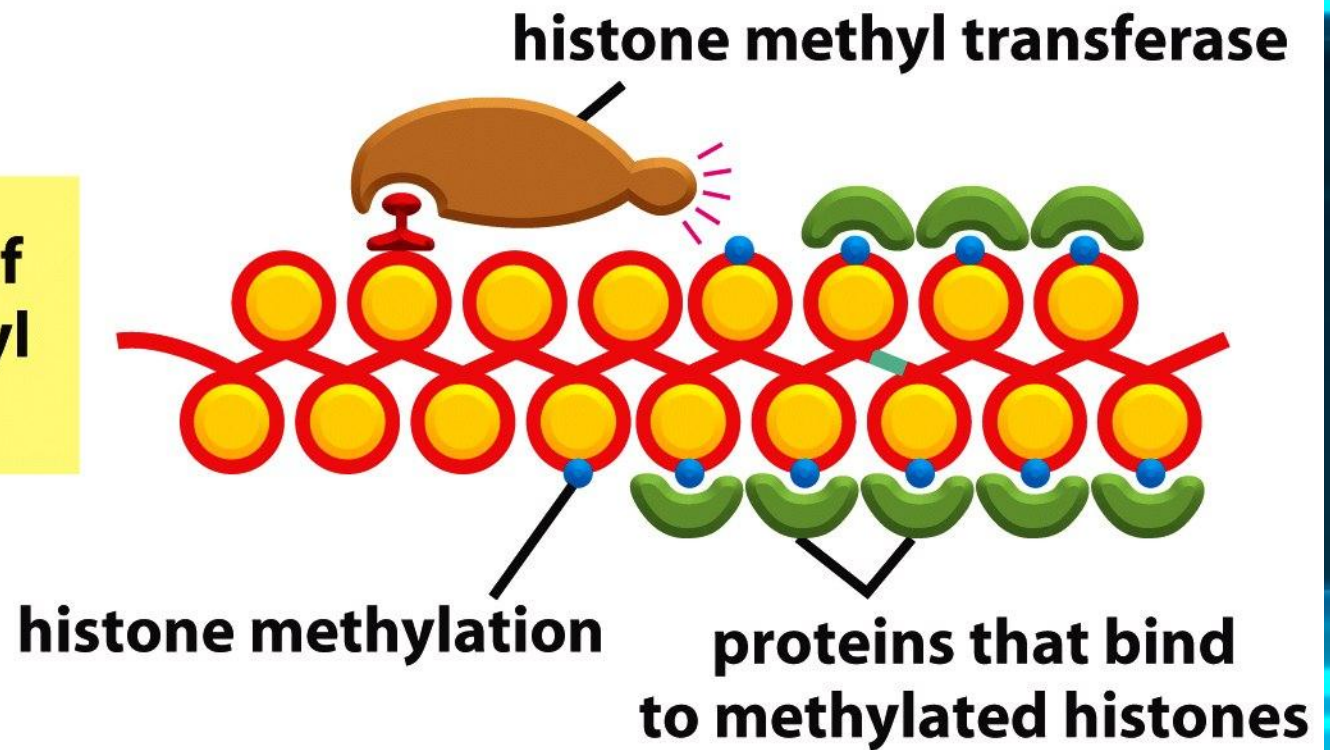
Gli xenobiotici interferiscono a diversi Livelli di controllo dell'espressione genica



Controllo trascrizionale-posttrascrizionale :

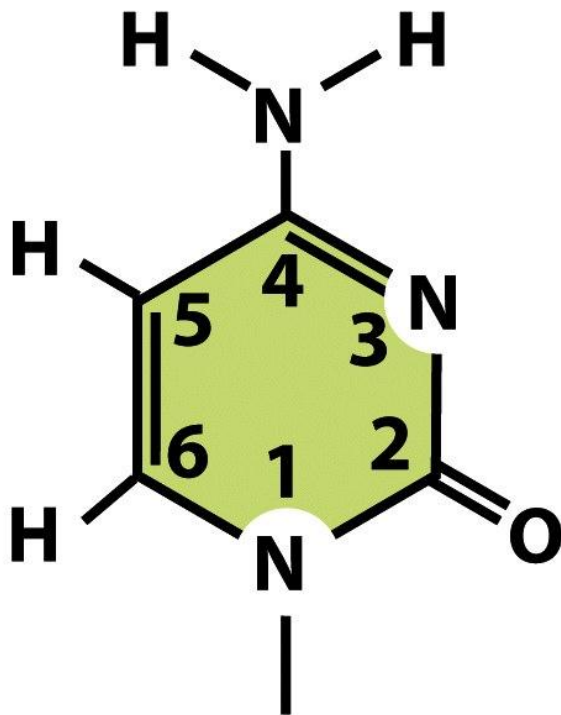
- interferenza con le vie metaboliche dei recettori nucleari, come i quelli per gli ormoni steroidei, per l'acido retinoico recettore arilico (ahr) (Puga A, Ma C, Marlowe JL. *Biochem Pharmacol.* 2009 Feb **The aryl hydrocarbon receptor cross-talks with multiple signal transduction pathways**).
- L'azione del TCDD(2,3,7,8 tetraclorodibenzo-p-diossina) sono mediate dai recettori dell'Ah(Aryl Hydrocarbon Receptor) Una volta determinato il legame la trascrizione avviene tramite l'AhR Nuclear Translocator (ARNT), qui avviene il legame con il DNA, Attivazione della trascrizione CY P-450 viene ad essere coinvolto Crescita, differenziazione, infiammazione (Whitlock JP, 1990, *Annu Rev Pharmacol* 30) CYP17 e CYP19 L.Cobellis *Fertil Steril* epub ahead of print 2008
- Il controllo trascrizionale nel sistema nervoso e' anche sotto il controllo della famiglia p53, che coinvolge I geni TP53, TP63, TP73. Questo avviene sia durante lo sviluppo che sotto stress esogeni quali sostanze tossiche ambientali e professionali che potrebbero portare all'insorgenza di fenomeni tossicologici e tumorali (Melino G. **The Sirens' song (Concept: apoptosis).** *Nature.* 2001. 412:23.) (Melino G, De Laurenzi V, Vousden KH. **p73: friend or foe in tumorigenesis.** *Nature Review Cancer.* 2002. 2: 605-615.).
- controllo trascrizionale di geni coinvolti nel sistema nervoso, microRNA (miR) che a loro volta inibiscono varie proteine nei neuroni (Hooper C, Meimaridou E, Tavassoli M, Melino G, Lovestone S, Killick R. **p53 is upregulated in Alzheimer's disease and induces tau phosphorylation in HEK293a cells.** *Neurosci Lett.* 2007 May) (Hooper C., K
lick R., Tavassoli M., Melino G., Lovestone S. **TAp73a induces tau phosphorylation in HEK293a cells via a transcription-dependent mechanism.** *Neurosci. Lett.* 2006;401:30-34.).
- l'espressione di p73 e p63 e' regolata farmacologicamente, e dalla esposizione a sostanze professionali e ambientale quali ad esempio bisfenolo A, Ftalati, diossine, policlorobifenili (PCBs), idrocarburi poliaromatici (PAHs), furani, fenoli stirene pesticidi organo clorurati e biocidi arsenico mercurio cadmio e altri metalli pesanti.

**recruitment of
histone methyl
transferase**



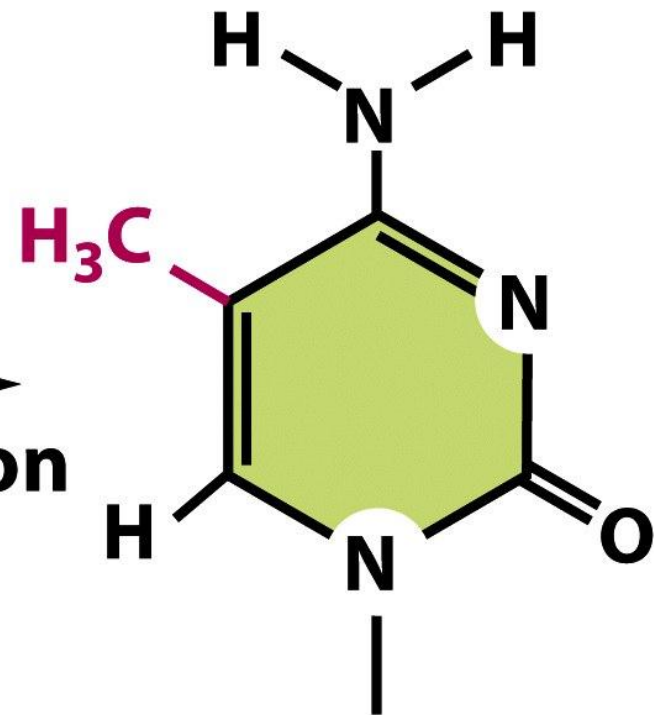
Meccanismi multipli contribuiscono alla repressione stabile dei geni

cytosine

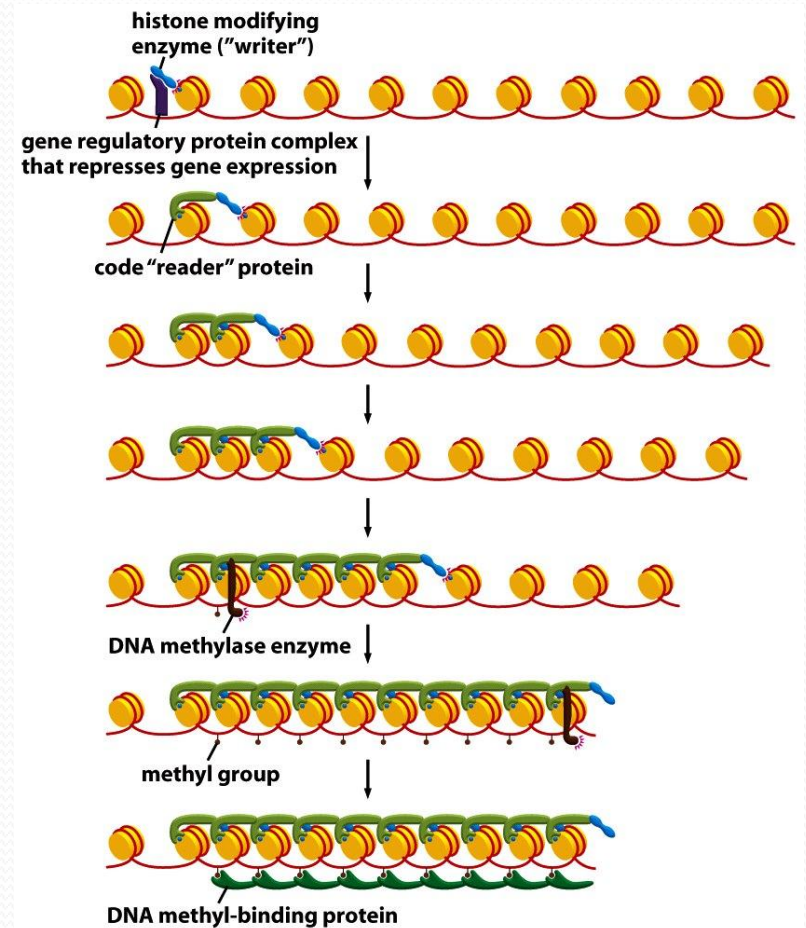
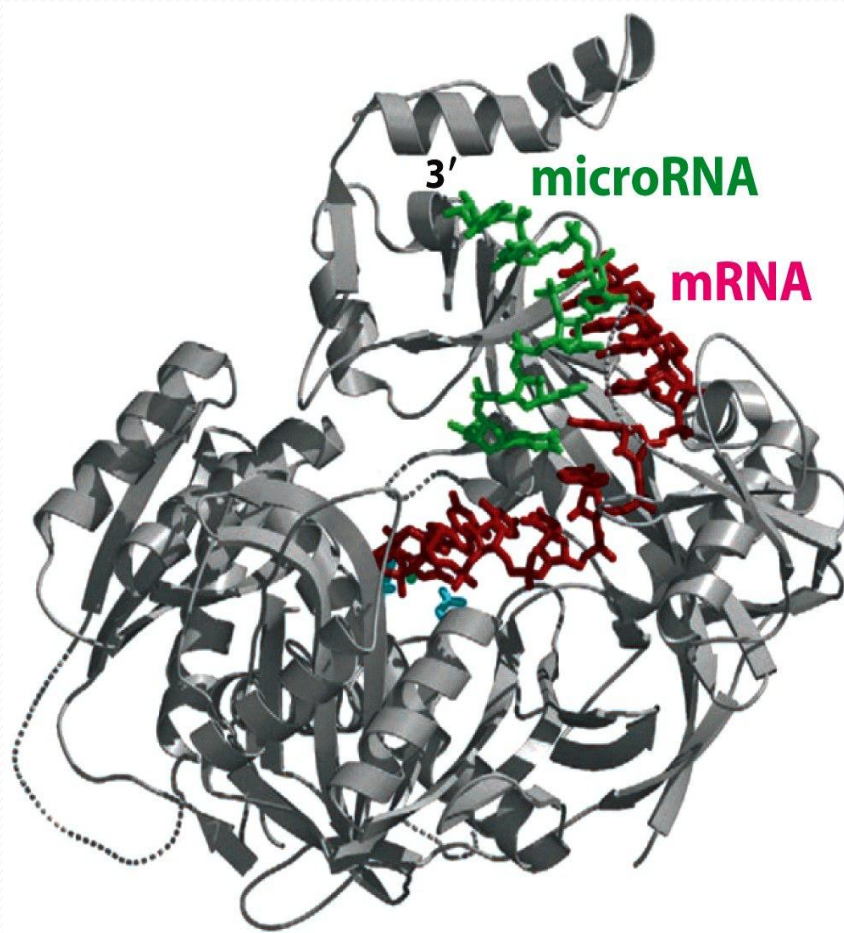


5-methylcytosine

→
methylation



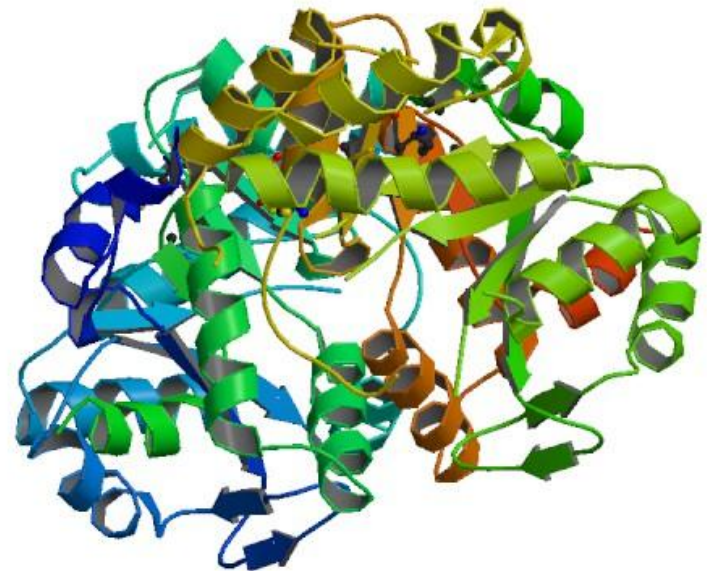
Meccanismi multipli contribuiscono alla repressione stabile dei geni



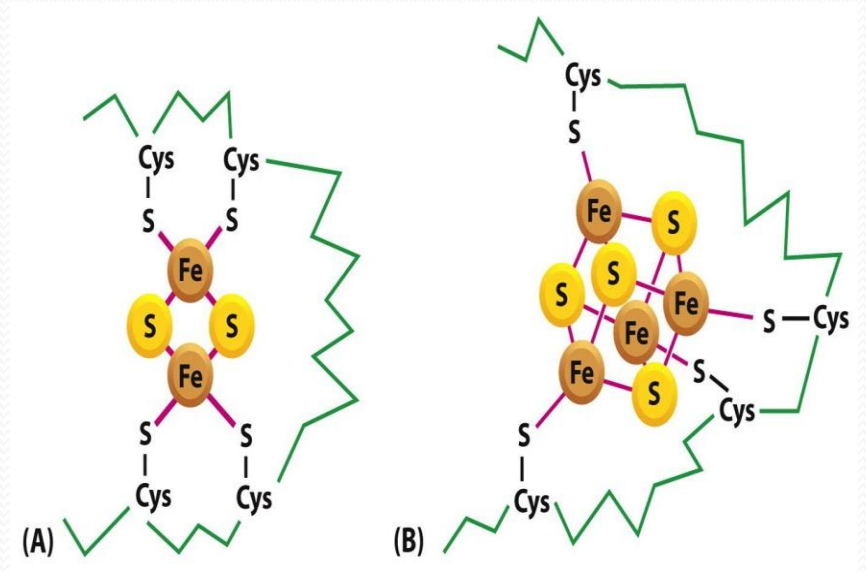
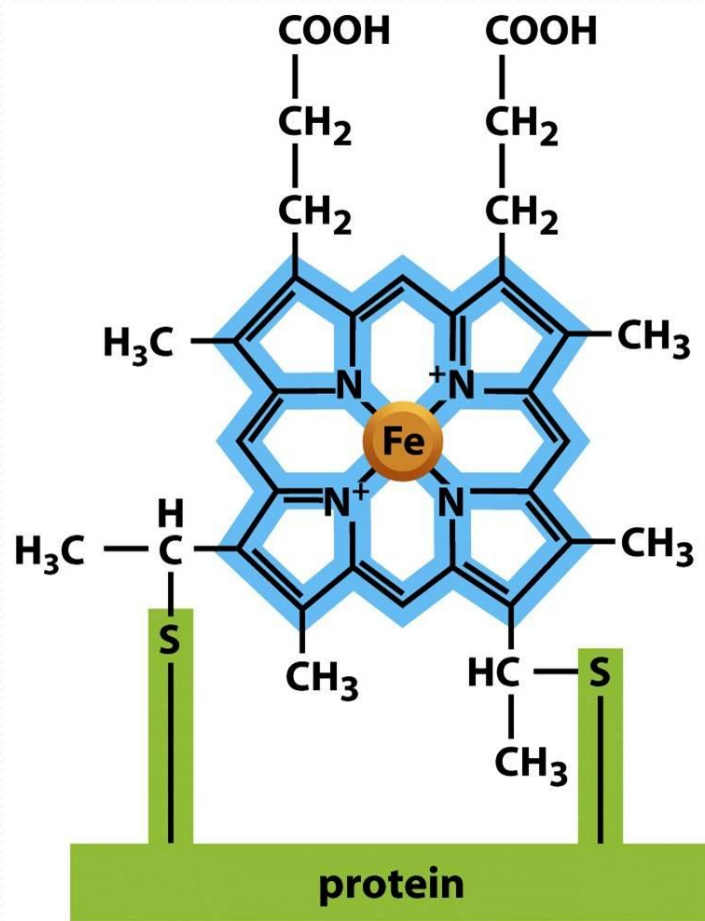
Controllo post-traduzionale : Inibizione attività enzimatiche:

- E' stato dimostrato che non solo l'esposizione al piombo e metalli pesanti ma anche molti solventi organici come il tricloroetilene fenoli possono inibire l'ALA deidratasi (**J Mori, K, Fujishiro K, Inoue N. UOEH. 1988 Inhibition of delta-aminolevulinic acid dehydratase by styrene and styrene oxide Koizumi A, Fujita H, Sadamoto T, .Toxicology. 1984 .Inhibition of delta-aminolevulinic acid dehydratase by trichloroethylene.)**
- La conseguenza dell' inibizione della l'ALA deidratasi è una ridotta sintesi dell'eme con conseguente
- riduzione di enzimi eme dipendenti (catalasi sod ,Gst perossidasi)
- un accumulo intracellulare di substrati a monte di tale enzima (ALA-acido delta-aminolevulinico) nelle cellule

Structure of 5-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD)



Il deficit dell' enzima AlaD porta ad una minore sintesi dell'eme quindi delle Catalasi SOD GPx e degli enzimi eme dipendenti con conseguente aumento dello stress ossidativo mitocondriale che peggiora la patologia respiratoria la neuropatia e il deficit funzionale multiorgano (**Valko M, Morris H, Cronin MT. Curr Med Chem. 2005**).



DISFUNZIONE MITOCONDRIALE SECONDARIA

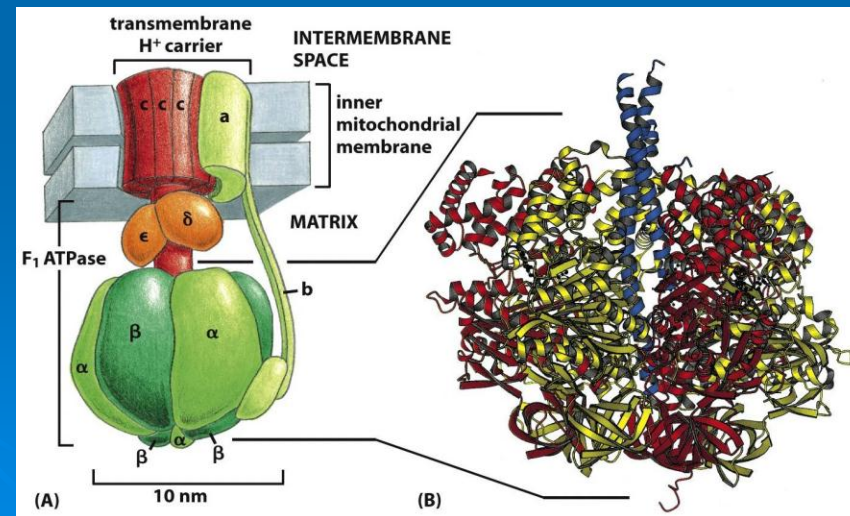
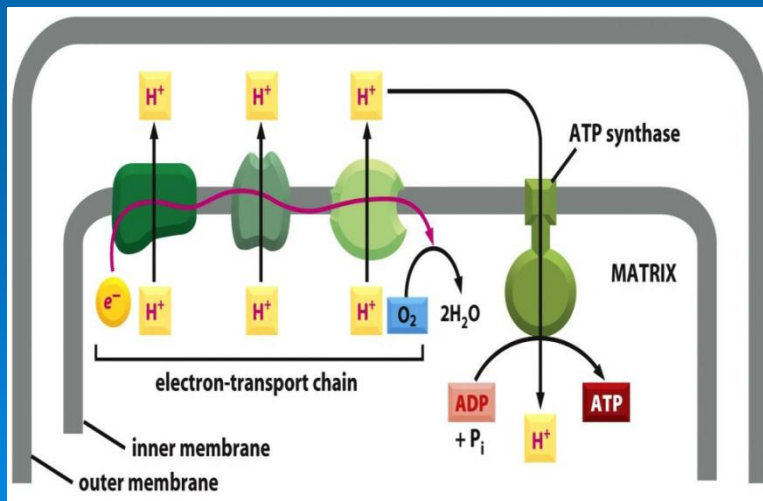
- il sistema nervoso è il miglior target per gli effetti tossici di molti metalli come arsenico, uranio, piombo, mercurio, cadmio, boro (Stohs SJ, Bagchi D. **Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions** Free Radic Biol Med.).
- l'arsenico è neurotossico; si accumula nel fegato, milza, nel tessuto nervoso; le basi chimiche della tossicità sono dovute alla grande affinità dell'As trivalente con lo zolfo. L'arsenico si lega ai gruppi SH dell'*acido lipoico* presente in enzimi quali la piruvato deidrogenasi. L'ossoglutarato deidrogenasi viene quindi inibito, bloccando il ciclo di Krebs (Bergquist ER, Fischer RJ, Sugden KD, Martin BD. **Inhibition by methylated organo-arsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenases**. J Organomet Chem. 2009).
- L'arsenico pentavalente (As(V)): è un disaccoppiante della fosforilazione ossidativa, cioè è capace di sostituirsi al fosfato inorganico ($\text{Pi} + \text{ADP} = \text{ATP}$) e pertanto blocca il processo di formazione di ATP ($\text{As} + \text{ADP} = \text{arseniato instabile}$ che si decompone nuovamente in $\text{ADP} + \text{As}$).

Molti metalli solventi dinitrofenolo ,clorofenoli stirene agiscono da disaccoppiante della fosforilazione ossidativa

(Castilho RF, Vicente JA, Kowaltowski AJ, Vercesi AE 4,6-Dinitro-o-cresol uncouples oxidative phosphorylation and induces membrane permeability transition in rat liver mitochondria. J Biochem Cell Biol. 1997 Han YH, Kim SZ, Kim SH, Park WH. 2,4-Dinitrophenol induces apoptosis in As4.1 juxtaglomerular cells through rapid depletion of GSH. Cell Biol Int. 2008 Rieger D, McGowan LT, Cox SF, Pugh PA, Thompson JG. Effect of 2,4-dinitrophenol on the energy metabolism of cattle embryos produced by in vitro fertilization and culture Reprod Fertil Dev. 2002. Kitagawa A. Effects of cresols (o-, m-, and p-isomers) on the bioenergetic system in isolated rat liver mitochondria. Drug Chem Toxicol. 2001 Feb Inhibition of mitochondrial respiration by model phenolic compounds. : BIOCHEM PHARMACOL; . 1979)

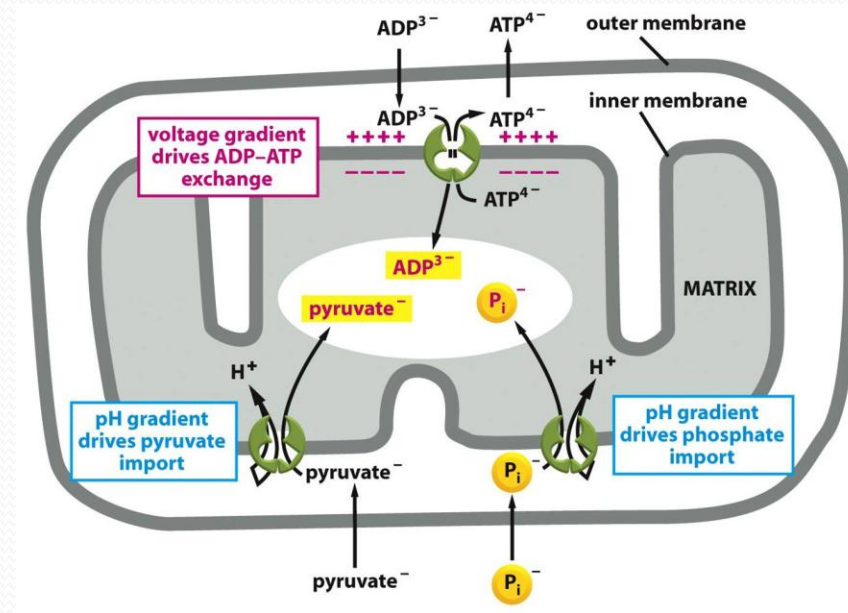
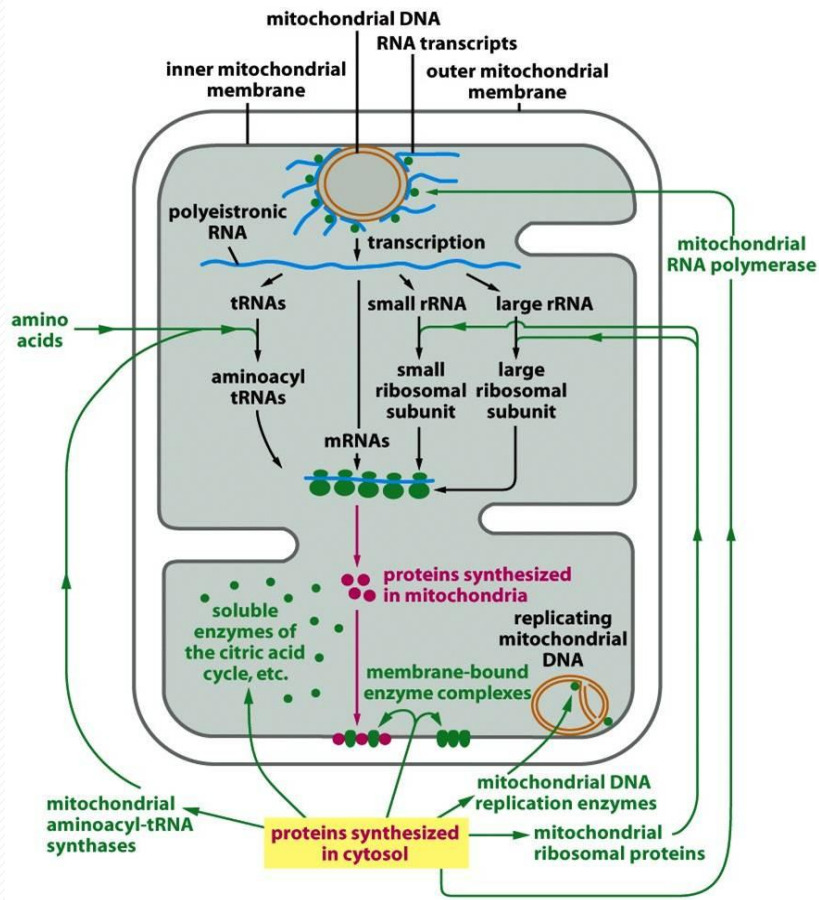
➤ Gli xenobiotici tissutali (per il fenomeno del bioaccumolo), lo stress ossidativo inibiscono l'attività della ADP ATP translocator

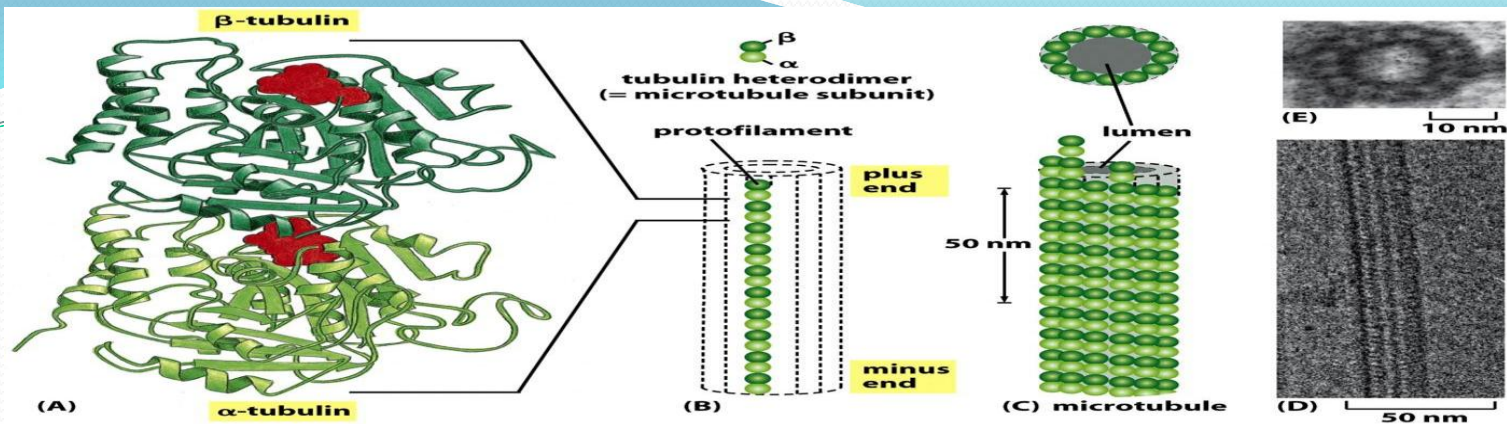
➤ [Myhill S, Booth NE, McLaren-Howard J](#) Chronic fatigue syndrome and mitochondrial dysfunction. [Int J Clin Exp Med.](#) 2009; [Free Radic Biol Med.](#) 1995 [Chen JJ, Bertrand H, Yu BP.](#) Inhibition of adenine nucleotide translocator by lipid peroxidation products. [Free Radic Biol Med.](#) 1995; [Vieira HL, Belzacq AS, Haouzi D, Bernassola F](#) The adenine nucleotide translocator: a target of nitric oxide, peroxynitrite, and 4-hydroxynonenal. [Oncogene.](#) 2001)



Metabolismo che genera energia nel mitocondrio

- Trasporto attivo adp atp





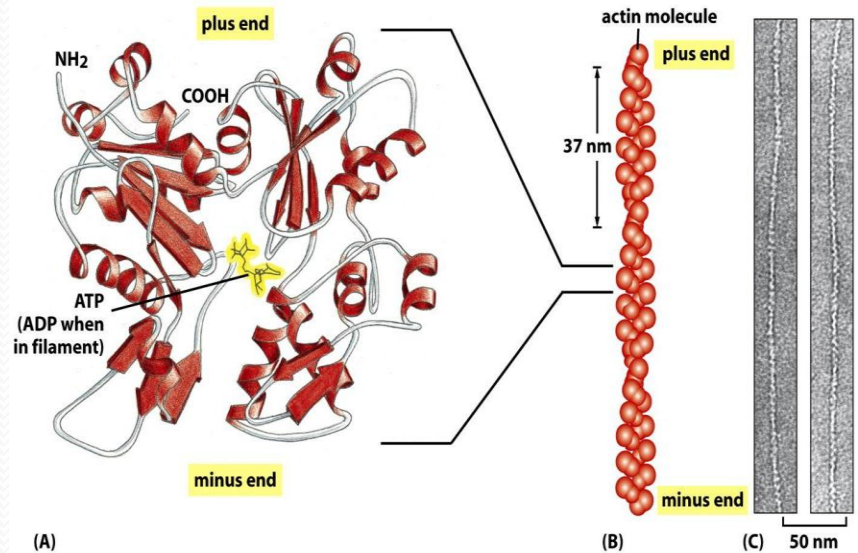
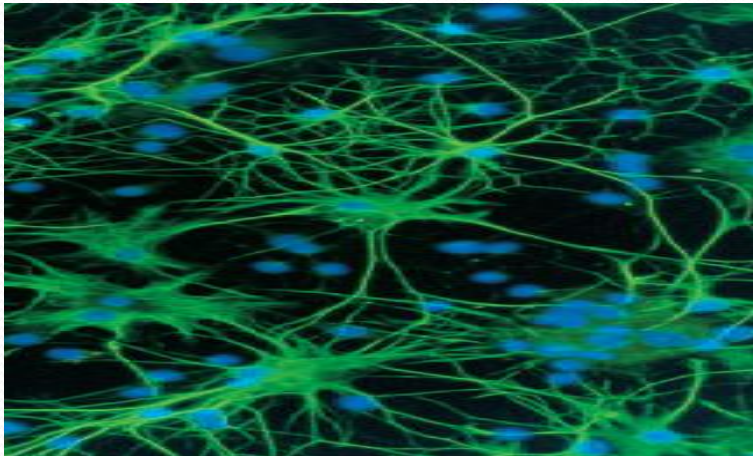
Microtubules are long, hollow cylinders made of the protein tubulin. With an outer diameter of 25 nm, they are much more rigid than actin filaments

INTERMEDIATE FILAMENTS

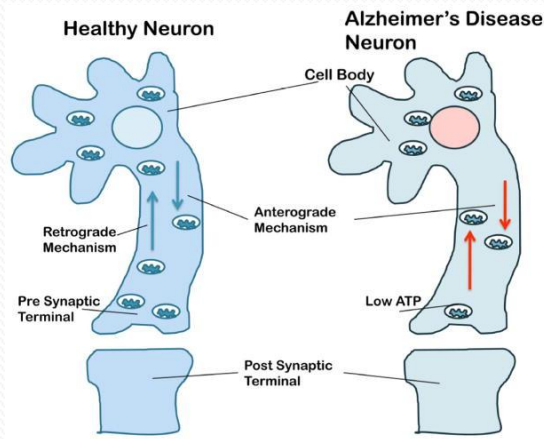
Intermediate filaments are ropelike fibers with a diameter of around 10 nm; they are made of intermediate filament proteins, which constitute a large and heterogeneous family

Actin filaments (*microfilaments*)

are two-stranded helical polymers of the protein actin. They appear as flexible structures, with a diameter of 5–9 nm, and they are organized into a variety of linear bundles, two-dimensional networks, and three-dimensional gels



Axonal Transport of Mitochondria along Microtubules in Neurons



I mitocondri viaggiano lungo gli assoni e dendriti per la fornitura di energia per terminazioni nervose per la normale comunicazione neurale, poi tornano indietro al corpo cellulare

- [Calkins MJ](#), [Manczak M](#), [Mao P](#), [Shirendeb U](#), [Reddy PH](#).

Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. [Hum Mol Genet](#). 2011 Sep

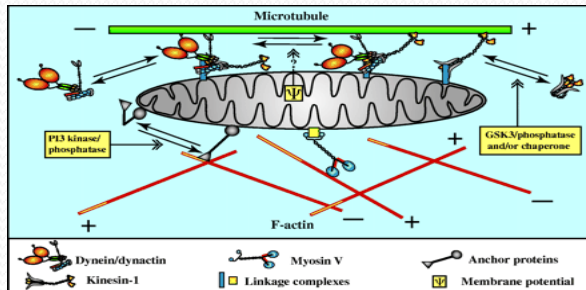
Crescenti evidenze suggeriscono che le anomalie mitocondriale giocano un ruolo importante nella patogenesi dell'Alzheimer

Diversi altri studi trovato un aumento della produzione di radicali liberi, perossidazione lipidica, danno ossidativo del DNA, proteine danno ossidativo, riduzione della produzione di ATP, e diminuzione della vitalità cellulare nel cervello di pazienti AD rispetto a quelli di pari età soggetti di controllo (Devi L, Prabhu BM, Galati DF, Avadhani NG, Anandatheerthavarada HK.

Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction. *J Neurosci*. 2006)

La Sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una malattia progressiva morte del motoneurone il trasporto assonale rientra nei meccanismi patogenetici della SLA.

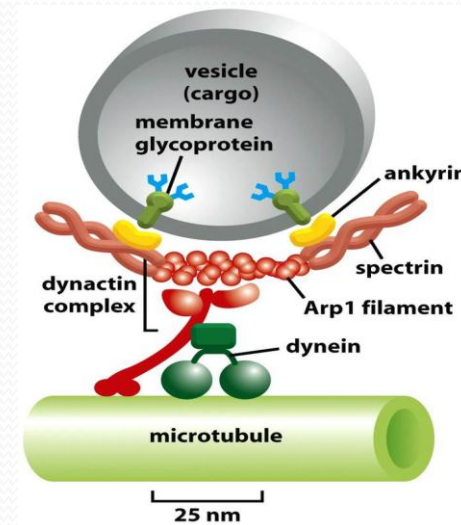
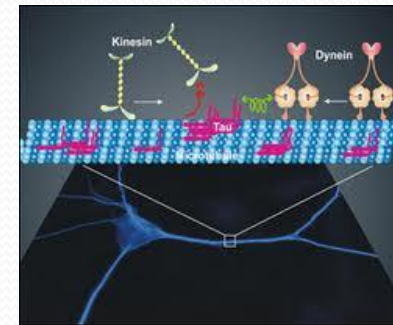
Danno mitocondriale può essere considerato come un unico il punto finale della neuro-degenerazione, (Barber e Shaw, 2010)



Axonal Transport

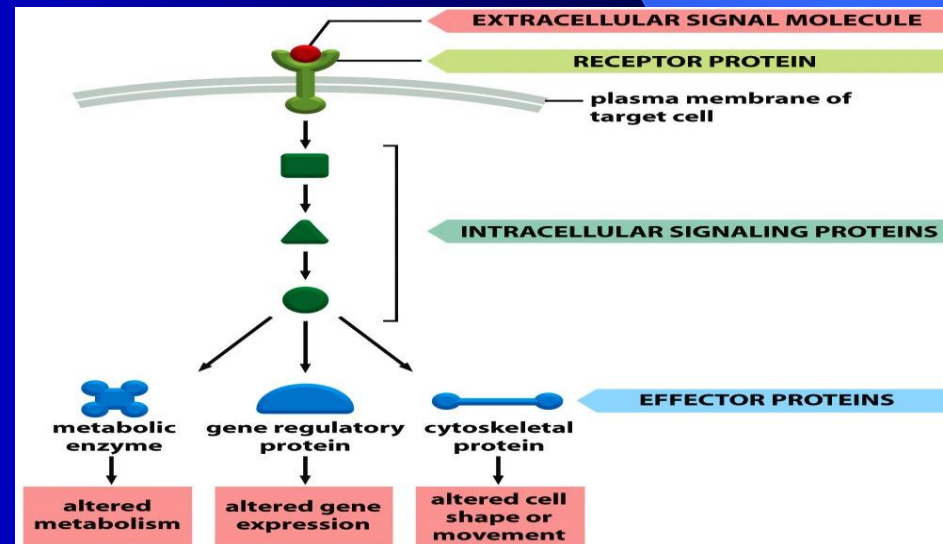
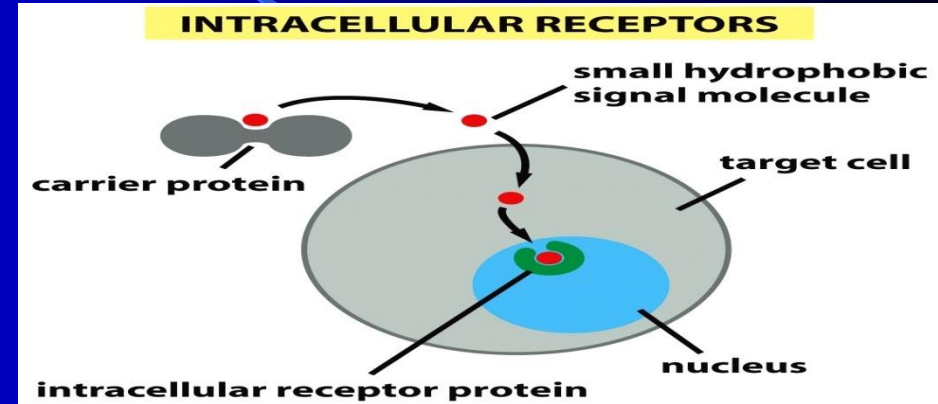
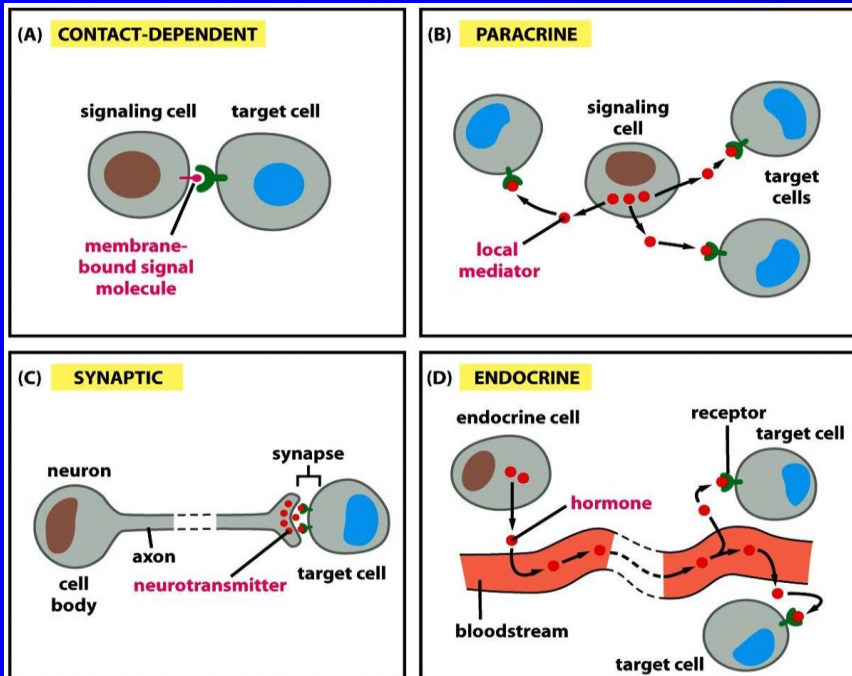
- La disfunzione mitocondriale determina disfunzione del sistema di trasporto assonale,
- I mitocondri sono molto abbondante nei terminali degli assoni delle cellule nervose dove forniscono energia da ATP e flusso regolazione del calcio. (Cai e Lytton, 2009).
- Topi transgenici con sovraespressione della proteina disaccoppiamento 1 (UCP1), un potente disaccoppiatore mitocondriale determina degenerazione assonale patologia del motoneurone (Dupuis et al., 2009) è dovuto a difetti nei sistemi di trasporto assonale.
- Il trasporto assonale anterogrado è mediata da proteine kinesina, mentre il trasporto retrogrado utilizza la dineina-dynactine

Motori molecolari proteine motrici che si muovono lungo i microtubuli sono le chinesine e dineine
Le dineine assonemiche sono motori molecolari più grandi e più veloci (micron / sec)

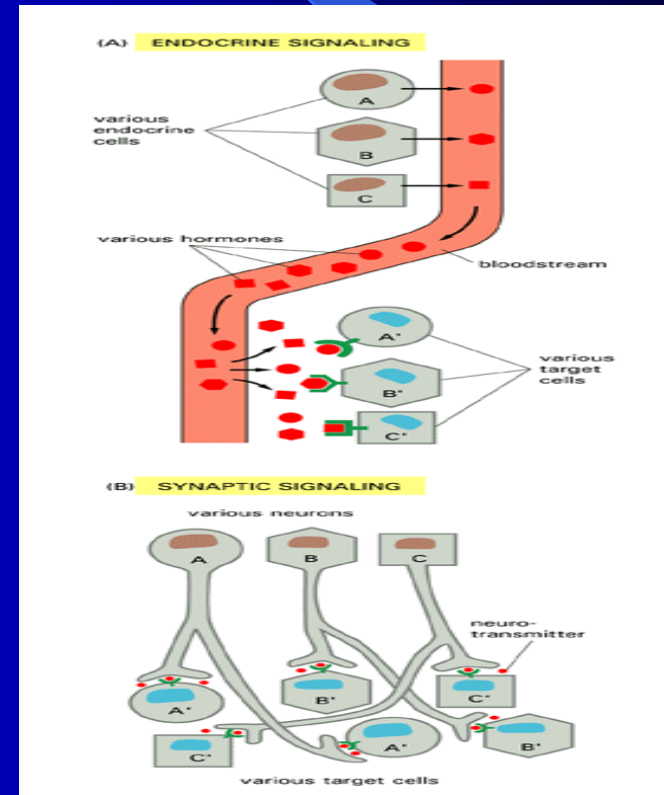
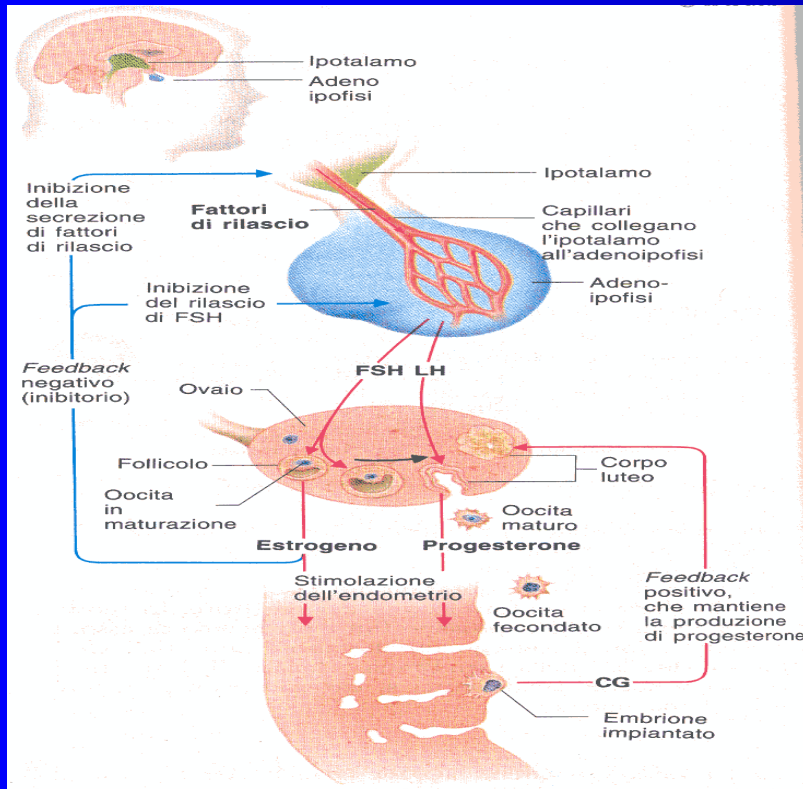


Disregolazione del sistema neuro-endocrino-immunitario

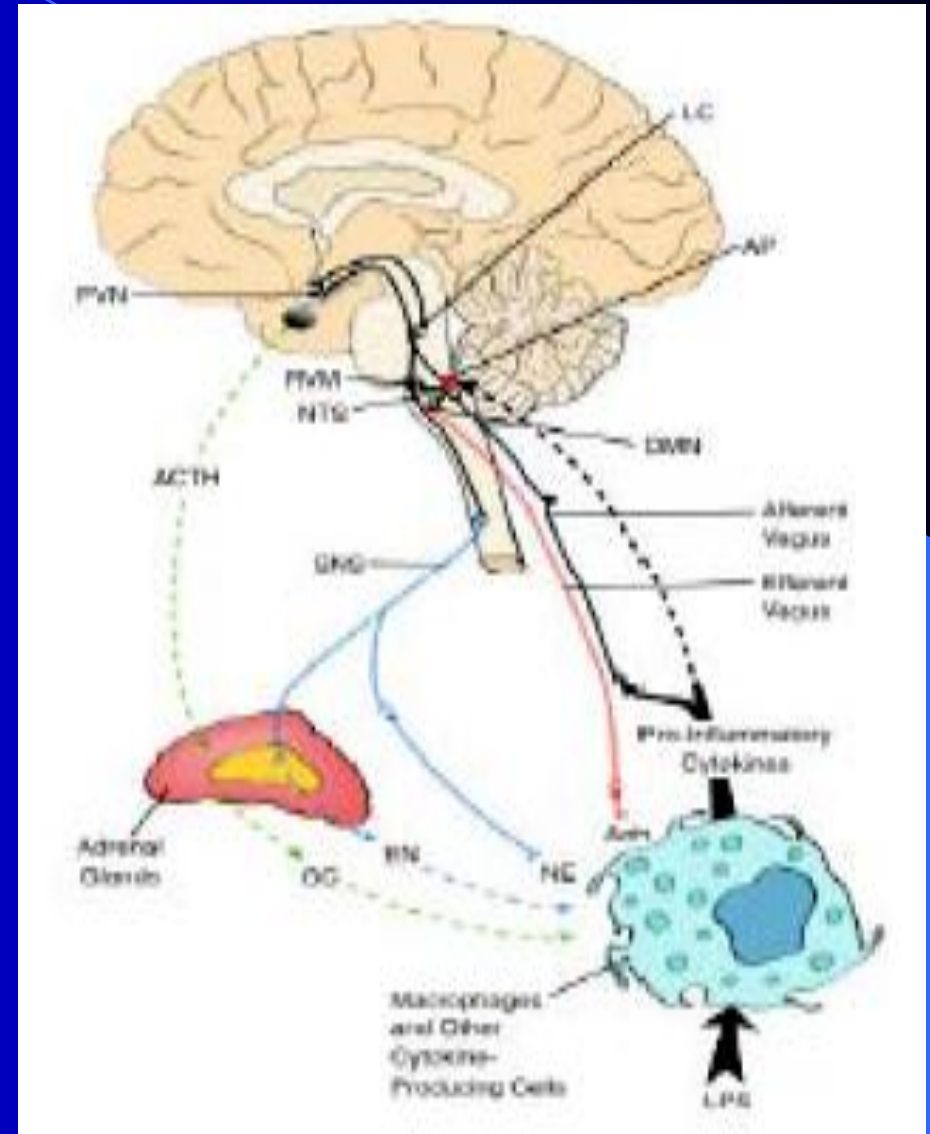
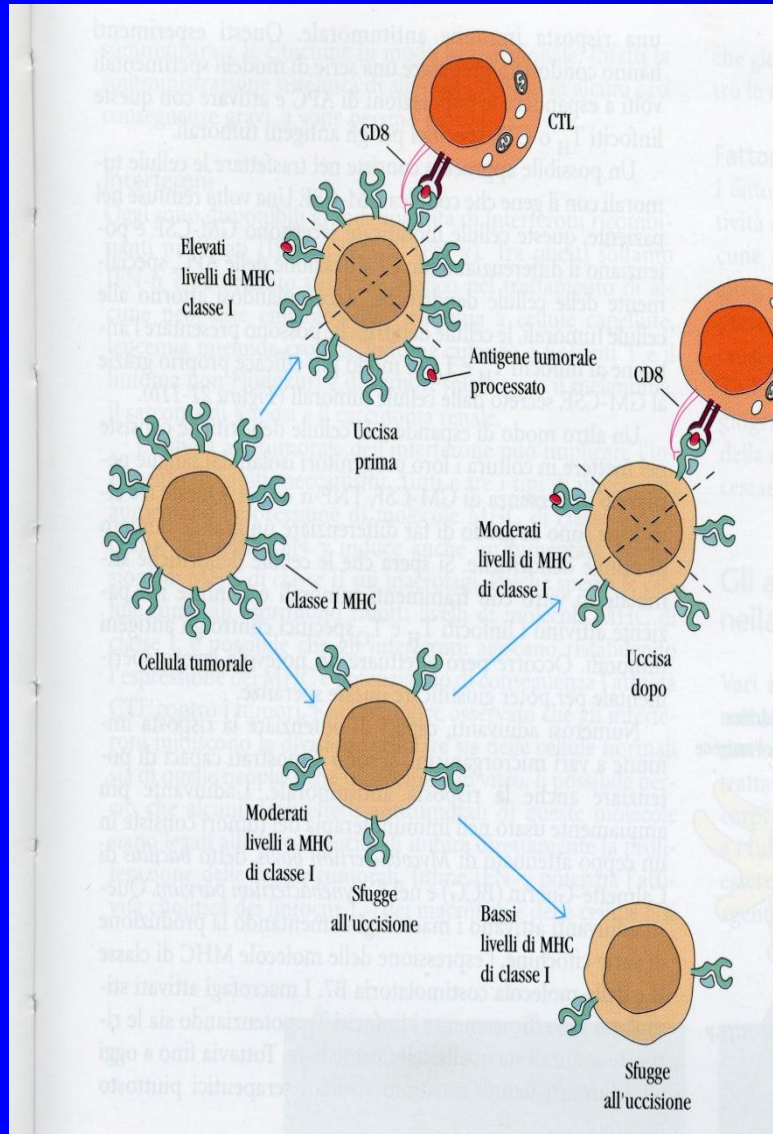
- Nessuna cellula vive isolata. Una complessa rete di comunicazione tra cellule regola crescita, maturazione, differenziamento, metabolismo, omeostasi di cellule che compongono tessuti ed organi



Nella MCS si realizza uno squilibrio nell'interazione tra il sistema neuro-endocrino e il sistema immunitario (Interactions between the immune and neuroendocrine systems: clinical implications J Soc Biol. 2003 che porta a uno stato di infiammazione cronica diffusa che si manifesta con grave astenia polineuropatia sensitiva motoria e viscerale intolleranza a diversi xenobiotici ambientali anche a bassissima dose



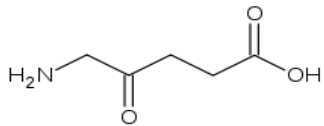
Neuro-endocrine-immune cross talk



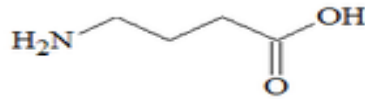
INTERFERENZA SU SISTEMI NEUTROTRASMETTITORI

Acido 5-aminolevulinico è un agonista potente per autorecettori GABA

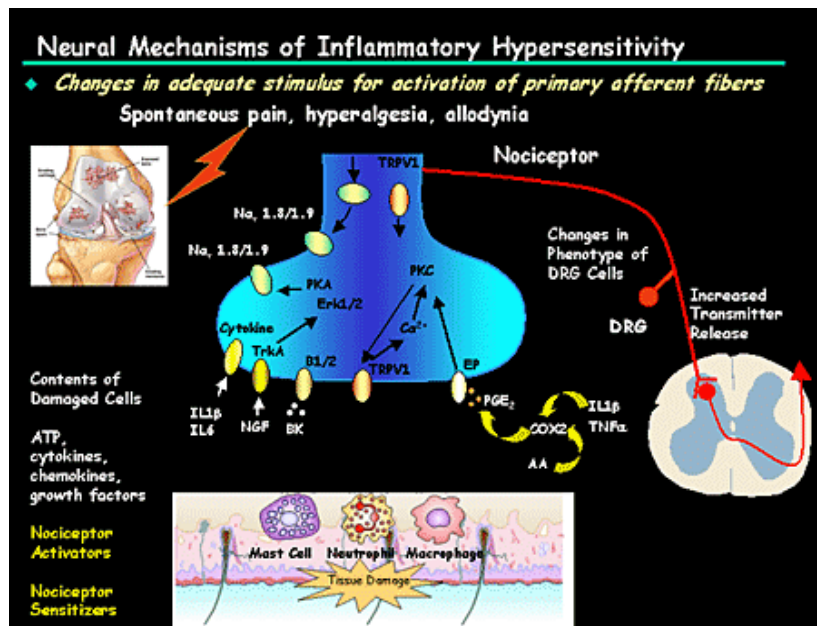
i sintomi neurologici di ALA di inibire sia il rilascio di -aminobutirrico (GABA) il legame del GABA alle membrane sinaptiche



Acido 5-aminolevulinico



L'acido γ-aminobutirrico (GABA)



Iperosmia

[BMC Neurosci.](#) 2011 **Calcium-stores mediate adaptation in axon terminals of Olfactory Receptor Neurons in Drosophila.**

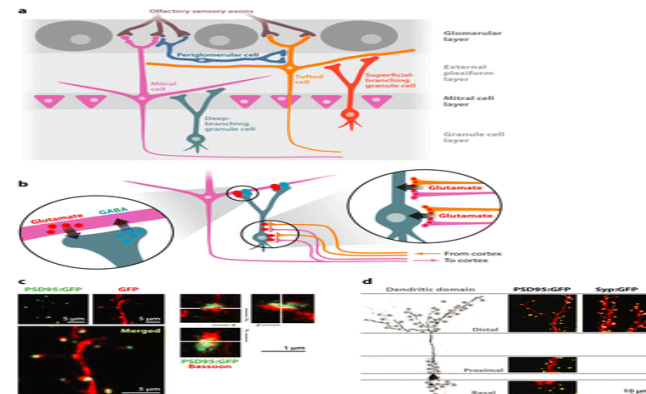
[Murmur MS, Stinnakre J, Real E, Martin JR.](#)

i neuroni sensoriali si adattano alle variabili condizioni ambientali, come la durata o la ripetizione di uno stimolo, risultati indicano che il GABA esercita un controllo di feedback. positivo attraverso le sinapsi GABAergico

Gli interneuroni inibitori locali contenenti acido gamma-aminobutirrico (GABA) sono continuamente sostituite nel bulbo olfattivo adulto.

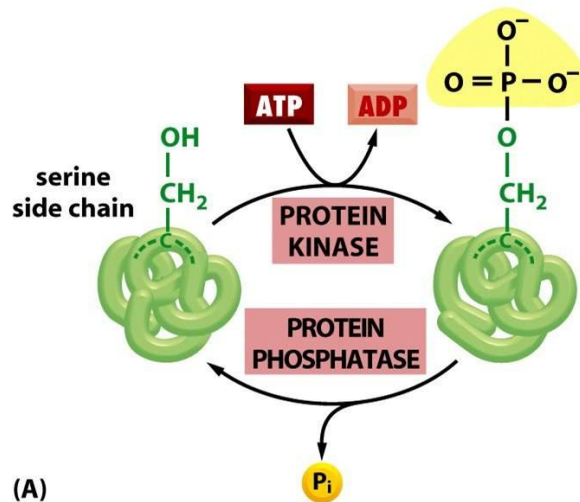
Neuronal replacement in microcircuits of the adult olfactory system.

[Lledo PM, Lazzarin C R Biol.](#) 2007

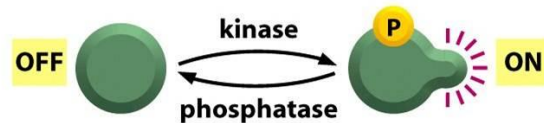


[Kelsch W, et al. 2010. Annu. Rev. Neurosci. 33:131-49](#)

Molecular mechanisms of lead neurotoxicity.



(A)

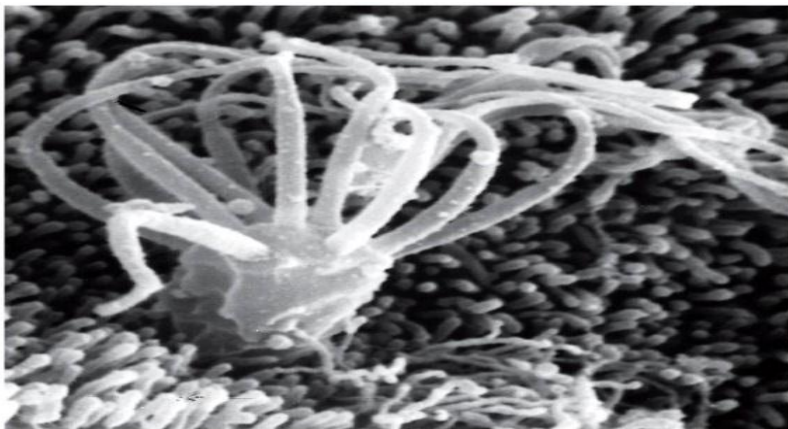
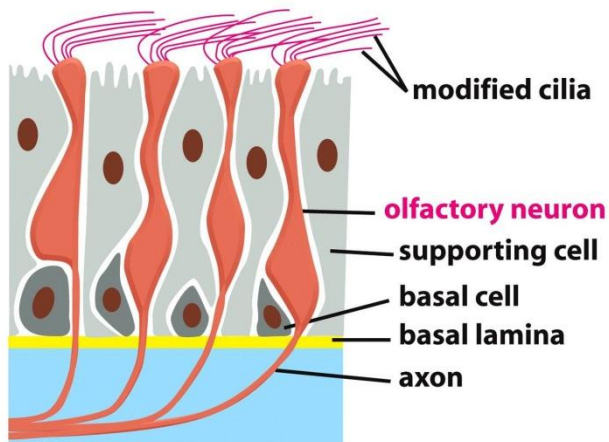


(B)

- La **proteina chinasi** è un enzima che modifica altre proteine aggiungendo fosfato
- La Fosforilazione di solito si traduce in un cambiamento funzionale della proteina bersaglio cambiando l'attività dell'enzima. Fino al 30% di tutte le proteine umane possono essere modificate da attività chinasi
- le chinasi sono noti per regolare la maggior parte delle vie cellulari, soprattutto quelli coinvolti nella trasduzione del segnale
- Le proteine chinasi sono organizzate in reti complesse di vie di segnalazione che coordinano l'attività della cellula a trasmettere segnali
- Molti dei segnali extracellulari devono essere integrati e **AMPLIFICATI DALLA CELLULA**
- **SINGOLE PROTEINE CHINASI SERVONO DA MICROCIP NEL PROCESSO DI INTEGRAZIONE**

Le concentrazioni di piombo picomolari interferiscono con la proteina chinasi C nel cervello

Il piombo altera i processi cellulari di calcio-mediate e può simulare il calcio nel legame di proteine regolatrici



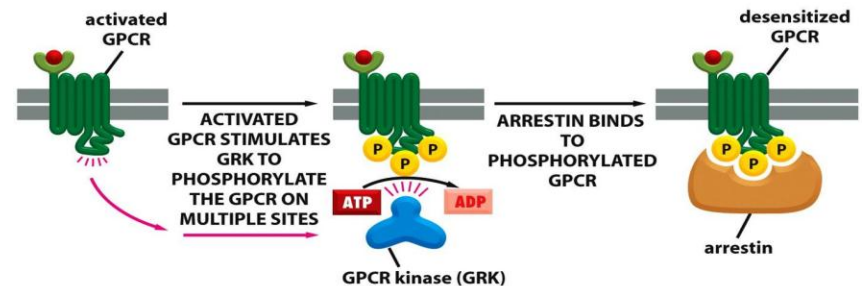
L'inibizione da piombo dei sottotipi chinasi C nel cervello .
[Murakami K](#) , [G Feng](#) , [Chen SG](#) . *J Pharmacol Exp There.* febbraio 1993

Proteina chinasi C (PKC) è un enzima importante nel mediare la trasduzione del segnale cellulare e plasticità neuronale.

LA PKC richiede calcio e fosfolipidi, in particolare fosfatidilserina (PS) per la sua attivazione

Concentrazioni estremamente basse (range picomolari) di Pb ++ sono stati segnalati per l'attivazione PKC parzialmente purificato da cervello di ratto (Markovac e Goldstein, 1988).

L'OLFATTO DIPENDE DA RECETTORI COLLEGATI A PROTEINE G LA DESENSIBILIZZAZIONE DI TALI RECETTORI DIPENDE DALLA fosforilazione del recettore da parte di chinasi



Effetti Neurologici sistemi neurotrasmettitori

- neuropatia autonoma
- disturbi della concentrazione e dell'attenzione e della memoria in seguito ad esposizione a comuni inquinanti ambientali
- Grave astenia , cefalee, vertigini , iperosmia, fibromialgia , parestesie diffuse
- L'interferenza sui sistemi di neurotrasmettitori insieme ai livelli elevati di citochine proinfiammatorie spiegherebbero la "stanchezza cronica" ([Georgiades E](#), [Behan WM](#), [Kilduff LP](#), [Hadjicharalambous M](#), [Mackie EE](#) **Chronic fatigue syndrome: new evidence for a central fatigue disorder.** [Clin Sci \(Lond\)](#). 2003)
- Il sistema nervoso è il miglior target per gli effetti tossici di molti metalli come arsenico piombo
- L'arsenico si lega ai gruppi SH dell'*acido lipoico* presente in enzimi quali la *piruvato deidrogenasi* . Inibisce il ciclo di Krebs in quanto reagisce con il legame fra disolfuro e l'acido lipoico ossidato, formando un complesso ciclico. ([Bergquist ER](#), [Fischer RJ](#), [Sugden KD](#), [Martin BD](#) **Inhibition by methylated organo-arsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenases.** [J Organomet Chem](#). 2009)
- Il mercurio Interagisce con gruppi -SH di proteine enzimatiche ha la capacità di sostituirsi all'atomo di idrogeno del gruppo -SH dando luogo alla formazione di mercaptidi X-Hg-SR Il mercurio è in grado di combinarsi, oltre che ai gruppi tiolici, anche ad altri gruppi funzionali, quali i fosforici, carbossilici, aminici e amidici, [Rev Environ Health](#). 2003 [Castoldi AF](#), [Coccini T](#), [Manzo L](#). **Maugeri Foundation IRCCS, Institute of Pavia**
- Alla **Single-photon emission computed tomography (spect)** si reperta in seguito ad esposizione a xenobiotici una compromissione delle capacità mnesiche e attentive, [Orriols R](#), [Cuberas G](#), [Jacas C](#), [Castell J](#), [Sunyer](#) Brain dysfunction in multiple chemical sensitivity. [Neurol Sci](#). 2009)
- **RM spettroscopica cerebrale (Hydrogen proton magnetic resonance spectroscopy (1H MRS)** spesso si reperata alto rapporto colina creatina indice di alterazione del metabolismo dei fosfolipidi da stress cellulare ossidativo di membrana Relative increase in choline in the occipital cortex in chronic fatigue syndromeB. K. Puri , S. J. Counsell R. Zaman, J. Main A. G. Collins 2002 [Chaudhuri A](#), [Condon BR](#), [Gow JW](#), [Brennan D](#), [Hadley DM](#). Proton magnetic resonance spectroscopy of basal ganglia in chronic fatigue syndrome. [Neuroreport](#). 2003 [Puri BK](#), [Agour M](#), [Gunatilake KD](#), [Fernando KA](#), [Gurusinghe AI](#), [Treasaden IH](#). An in vivo proton neurospectroscopy study of cerebral oxidative stress in myalgic encephalomyelitis (chronic fatigue syndrome). [Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids](#). 2009

- 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.)*
- 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
- **uno 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

NEURO ENDOCRINE IMMUNO CROSS TALK

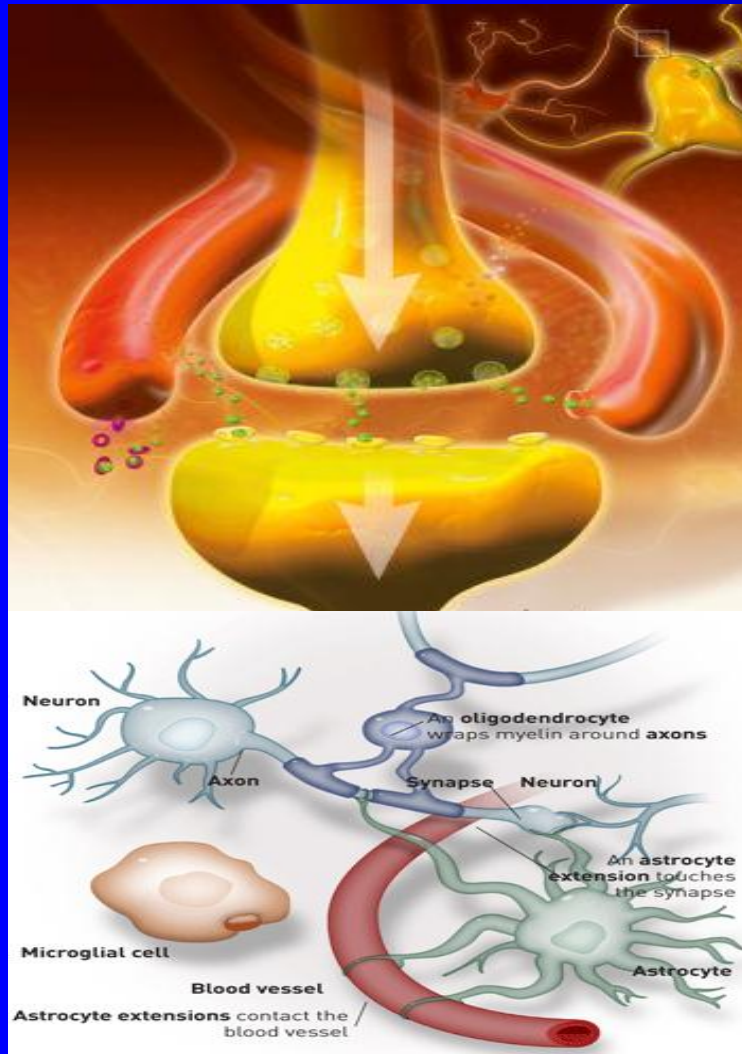
- **PATHWAY NEURONALE**
- Attivazione delle fibre sensorie afferenti del NERVO VAGO mediata dalle CITOCHINE e dalle CELLULE CHEMIORECETTIVE localizzate nei paragangli vagali.
- L'input sensorio del vago è raccolto dai neuroni del NTS nucleo del tratto solitario che coordinano le funzioni del SN autonomo e l'interazione con il sistema endocrino.
- **PATHWAY UMORALE**
- Le CITOCHINE CIRCOLANTI possono superare la barriera ematoencefalica attraverso un carrier attivando direttamente neuroni specifici oppure legare recettori sull'endotelio dei capillari cerebrali determinando il rilascio di MEDIATORI SOLUBILI.
- Le citochine sono anche responsabili della febbre e senso di stanchezza che si accompagnano alle infezioni; ruolo anche nel danno cerebrale e nelle malattie neurodegenerative
- **ASSE HPA**
- Neuroni specializzati nel PVN **nucleo paraventricolare** sintetizzano CRH che stimola l'ipofisi a produrre ACTH "sintesi e rilascio dei GLUCOCORTICOIDI da parte della corteccia del surrene.
- FIBRE SIMPATICHE liberano NORADRENALINA innervano organi linfoidi primari (timo e midollo osseo) e secondari (milza, linfonodi e tessuti). Dalla midollare del surrene viene inoltre rilasciata ADRENALINA.
- PARASIMPATICO/NERVO VAGO innerva i principali organi compresi quelli del sistema reticoloendoteliale rilasciando ACETILCOLINA che ha come bersaglio i macrofagi.

La disregolazione del sistema immunitario determina uno stato di infiammazione cronica diffusa

- diverse le evidenze scientifiche che spesso le intolleranze e ipersensibilità riconoscono meccanismi cellulari e molecolari e che non coinvolgono le IGE: diversi studi chiarisce nuovi meccanismi cellulari e molecolari che sottendono la sensibilizzazione l'infiammazione e l'omeostasi immunologica di risposta ai comuni allergeni :**Brand EB scribner Ta J.allergy clin immunol 2006 Cates EC Fattouh R Modeling responses to respiratory house dust mite exposure contrb microbial 2007 Finkelman Fd Anaphilaxis : lesson from mouse models j allergy clin immunol 2007 Finlelman Molecular mechanism of anaphilaxis 2005** (dimostrano una via alternativa mediata da IgG recettori , macrofagi e mediatori questa anafilassi è aumentata dall'ossido nitrico prodotto dalla NOS sintetasi endoteliale e dalle citochine IL-4 IL 13 viene modulata e ridotta dalla stimolazione dei recettori B adrenergici recettori I TIM immunorecettore tirosina che bloccano la tirosina Fosfatasi)
- **Mitochondrial dysfunction increases allergic airway inflammation Aguilera- Aguirre L bacs j immunol 2009** (esposizione a ozono PM O1 inquinanti ambientali aumenta il livello dei ROS e induce disfunzione mitocondriale nelle cellule dell'epitelio respiratorio disfunzione che si traduce in riduzione della biquinol-citocromo c reductasi core 2 danno al complesso 3 che si traduce in iperresponsività bronchiale)
- **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, Westendorp 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, Matthea KI, Forbes E, Mahalingam](#) *Clin Exp Allergy. 2006*

Neuroimmunomodulazione

Astrocyte/neuron synapse in the brain



- E' ormai chiaro che gli astrociti partecipano attivamente al funzionamento sinaptica e proprietà
- mostra, come la secrezione di trasmettitori classici, si pensava essere esclusivamente neuronale astrociti corticali in grado di sintetizzare neuropeptid
- Perché NPY è un regolatore diffusa e potente della trasmissione sinaptica
- Due assi principali endocrine incidono drammaticamente sui Neuroimmunomodulazione:
- ipotalamo-ipofisi-gonadi (HPG)
- 'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA)
- cervello-timo-linfatico asse comunicano attraverso una serie di segnali simili (neurotrasmettitori, peptidi, fattori di crescita, ormoni)
- gli astrociti sono elementi del sistema nervoso centrale che condividono con i neuroni, le cellule endocrine e immunitarie simili funzionalità di riconoscimento e trasduzione, e che rappresentano entità chiave durante lo sviluppo del sistema nervoso centrale nel cervello adulto, così come durante l'invecchiamento e le patologie associate all'invecchiamento, come ad esempio disturbi neuro-degenerative
- il HPG LHRH estrogeni HPA (in particolare glucocorticoidi (GC)) interagiscono con astrociti realizzando un ulteriore livello di integrazione la la **Glia è un obiettivo di mediatori neuroendocrini e immunomodulatori**

Effetti immunologici

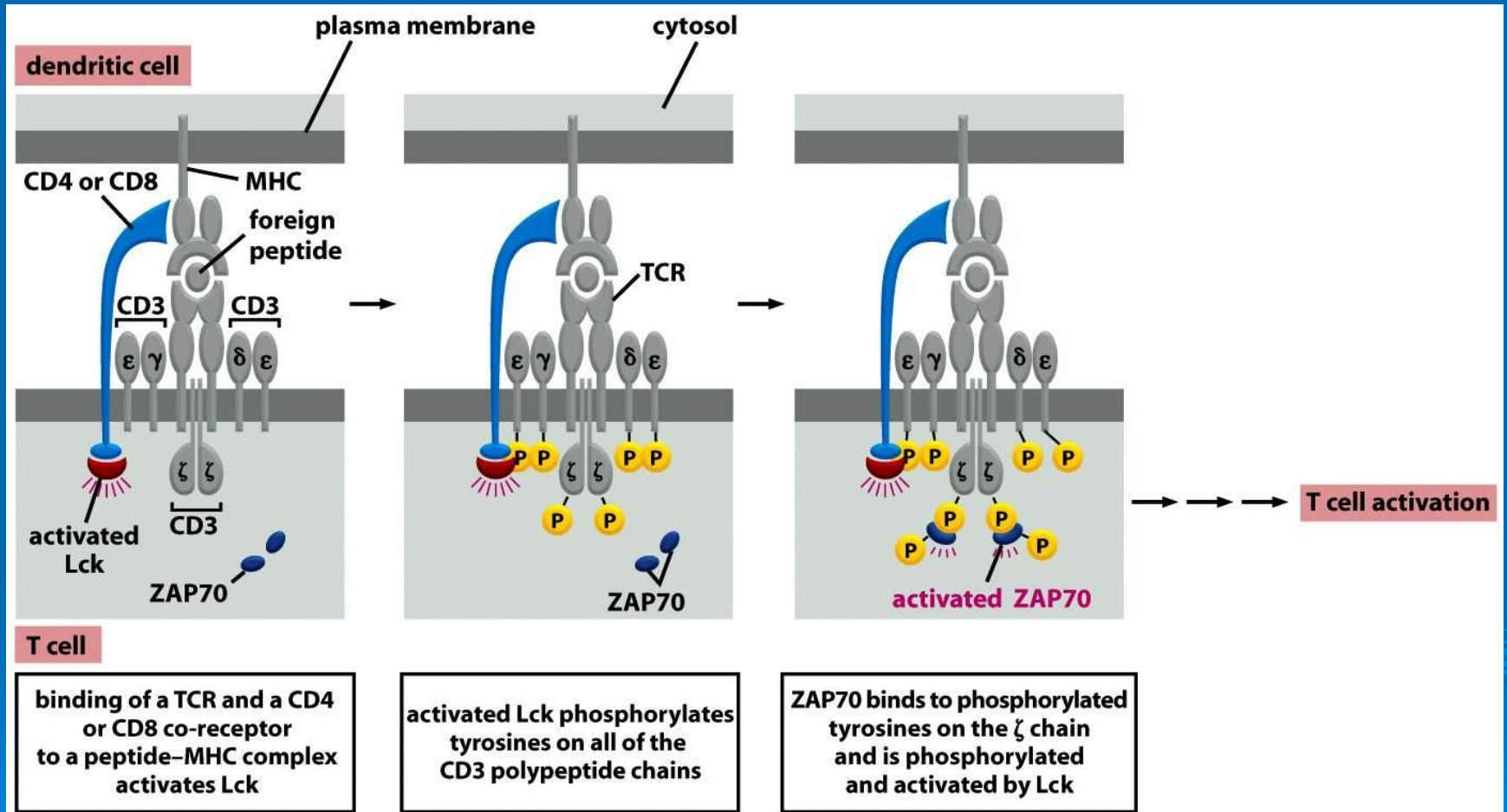
- **l' attivazione del recettore AHR** , fattore di trascrizione aumenta notevolmente la percentuale di T H 17 e la loro produzione di citochine nei topi il complesso AHR-idrocarburi puo' rappresentare co-fattore nello sviluppo di malattie autoimmuni.([Veldhoen M](#), [Hirota K](#), [Westendorf AM](#), [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 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](#))

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
- 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)

HELPER T CELLS AND LYMPHOCYTE ACTIVATION

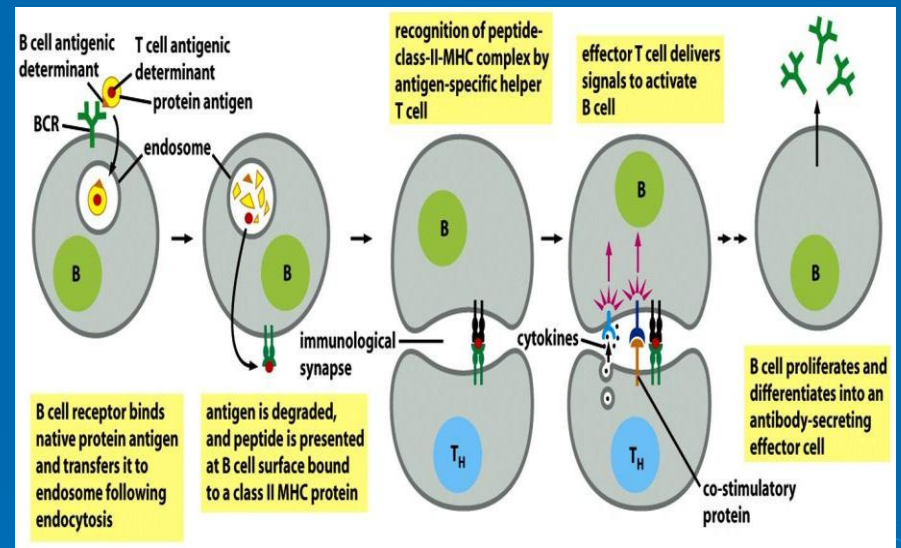
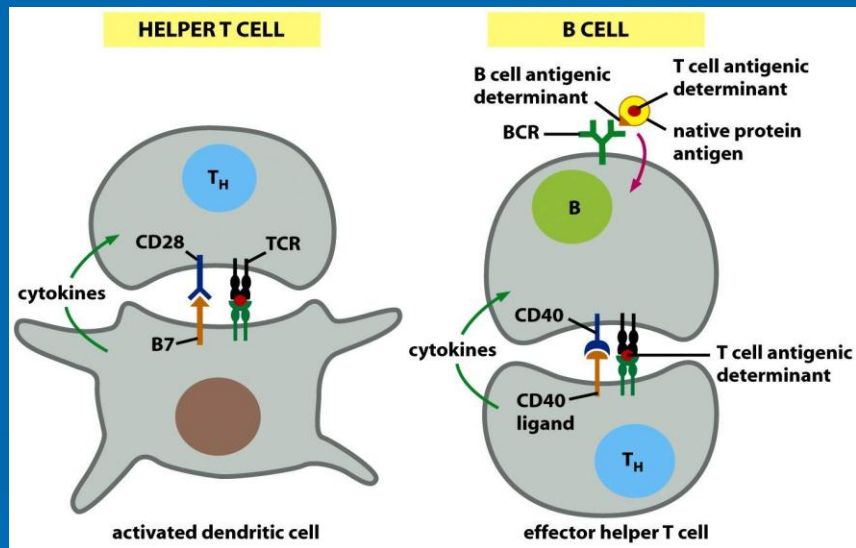
Ai particolari ultrafini la cellula del sistema immunitario (macrofagi attivati) reagiscono con segnali chimici intracellulari ed extracellulari: citochine proinfiammatorie IL 1 e TNF alfa che determinano una complessa reazione infiammatoria (reazione vascolare cellulare e proteica) debole e persistente



Una speciale classe di cellule B riconosce antigeni indipendenti da cellule t

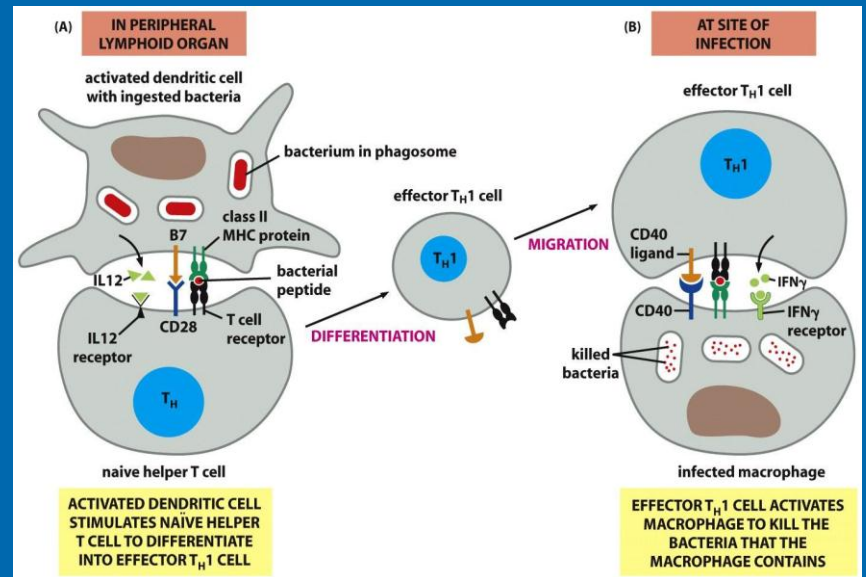
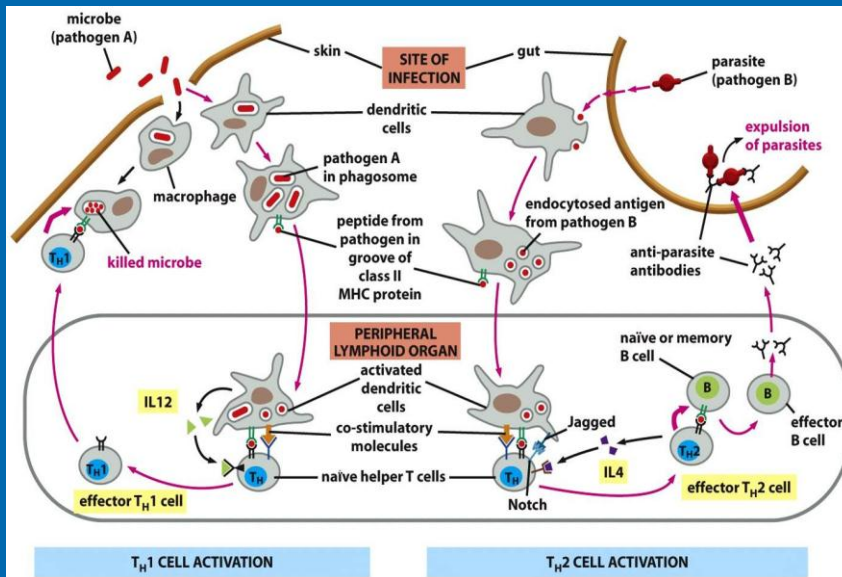
Confronto dei segnali necessari per attivare una cellula T helper e una B con lo stesso antigene

Le cellule th sono necessarie per attivare le cellule B



Attivazione delle cellule TH1 e TH2

The differentiation of naïve helper T cells into either TH1 or TH2 effector cells determines the nature of the subsequent adaptive immune responses



Prospettive terapeutiche

- **La conoscenza dei meccanismi di induzione dei processi epigenetici puo' realizzare MISURE EFFICACI di prevenzione verso gli effetti degli inquinanti ambientali e professionali oltre con "evitamento chimico" riduzione abbattimento della esposizione con sostanze in grado di contrastare i meccanismi epigenetici sopra descritti**
- Un concetto importantissimo è che le modifiche epigenetiche possono essere **reversibili** :
- molti studi dimostrano che l'assunzione di vitamine antiossidanti sembra prevenire sia l'alterazione dello stato di metilazione del DNA sia l'accorciamento dei telomeri:
- Il sulforafano (SFN) un isotiocianato presente nelle verdure crucifere come broccoli e germogli di broccoli. biotina, acido lipoico , estatti cipolla aglio composti organosolfurei vitamina E sono potente induttore degli enzimi di fase 2 di disintossicazione, e operano anche attraverso meccanismi epigenetici inibiscono l' istone deacetilasi (HDAC) .
 - garlic oil (GO) alta affinità di piombo per il gruppo-SH DA UNO STUDIO si è riscontrato che lo stress ossidativo e le alterazioni dei parametri nel siero e nei tessuti indotta da acetato di piombo, l'alcool e la loro combinazione sono state significativamente contrastato dal GO ricchi di antiossidanti (arricchito con disolfuri diallile, polisolfuri diallile e loro ossidi come ajoene) e Vitamina E.
 - Il garlic oil GO contrasta la tossicità del piombo, sia attraverso il legame con ioni di piombo e anche realizzare azioni antiossidanti solfuri organici di GO agisce da scavenger OH • radicale e rigenerare le vitamine e solfuri
- Questi risultati forniscono la prova che un meccanismo di chemioprevenzione del cancro da SFN è tramite cambiamenti epigenetici associati con l'inibizione dell'attività di HDAC .. **Semin Cancer Biol. 2007 Epub 2007 May 5.Dietary histone deacetylase inhibitors: from cells to mice to man.**
- i Polifenoli estratti dalla cipolla rossa (Allium cepa),hanno una potente antiossidante e attività antimutagenica . **Food Chem Toxicol. 2009** Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (Allium cepa) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities.**Singh BN, Singh BR, Singh RL, Prakash D, Singh DP, Sarma BK, Upadhyay G, Singh HB.**
- Mutat Res. 2001 **The superiority of organically cultivated vegetables to general ones regarding antimutagenic activities.****Ren H, Endo H, Hayashi T.**
- **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2009** antimutagenic and antigenotoxic effects of vegetable matrices on the activity of pesticides.**Isidori M, Caterino E, Criscuolo E, Fatigati V, Liguori G, Parrella** (in questo studio si dimostra che l'attività di dodici pesticidi contaminanti le verdure è molto ridotta dai polifenoli delle verdure)

*Guarda come il pavimento del cielo è fittamente intarsiato di patène d'oro splendente.
Non c'è la più piccola stella che tu contempli, la quale non canti nel suo moto come un angelo e non s'intoni coi
cherubini dagli occhi sempre giovani.
Tale armonia è nelle anime immortali! ma finché le nostre sono rinchiusa in questo corruttibile involucro di argilla
noi non la possiamo udire*

William Shakespeare IL MERCANTE DI VENEZIA

- **Le malattie ambientali sono sottovalutate emblematica è la controversia della sindrome da gulf war , uranio impoverito**
- La presenza di diossina e PCB **mercurio** e metalli pesanti nel cordone e nella placenta (impatto prenatale) e nel latte materno (impatto postnatale) solleva preoccupanti interrogativi sugli effetti, che si potranno manifestare a medio e lungo termine
- Si stima che circa il 10 per cento delle donne, in Europa, sia affetto da endometriosi
- **Grandjean P; Landrigan (** Harvard School of Public Health **)** hanno definito pandemia silenziosa una serie di danni neuro-psichici da interferenti endocrini (bisfenolo A, Ftalati, diossine, policlorobifenili (PCBs), idrocarburi poliaromatici (PAHs), furani, pesticidi, xenostrogeni) che si starebbero diffondendo, nell'indifferenza generale, interessando ormai almeno il 10 per cento dei bambini. (**Lancet 2006; 368: 2167–78)**
- La comprensione delle alterazioni epigenetiche indotte da metalli pesanti endocrine disruptor (metalli pesanti, pesticidi, erbicidi, policlorobifenili-PBCs ftalati (plastificanti) e i ritardanti di fiamma (polibromurati fenoli stirene, diossine furani, acido perfluorooctanico, pentaclorofenolo, idrocarburi policiclici aromatici) darà una base scientifica per la prevenzione e terapia di sindromi neurodegenerative, autismo, SLA, Alzheimer, endometriosi intolleranze ambientali ,disturbi neurocomportamentali nei bambini
- Gli antichi Romani, erano usi a conservare gli alimenti in recipienti di rame o di bronzo con rivestimento interno di piombo, al fine di non fare assumere ad essi il verderame, adoperavano tubature di piombo per gli impianti idrici. Inoltre essi facevano grande uso come dolcificante della sapa,cioè di mosto cotto in recipienti con rivestimento interno di piombo,. In moltissimi reperti ossei rinvenuti nelle tombe di epoca romana sono stati trovati sali di piombo tanto che non mancano gli autori che sostengono che il saturnismo abbia rappresentato una delle cause della decadenza romana
- A base di Piombo erano gli utensili e le stoviglie di uso comune, i bicchieri, i piatti,anche le spezie.
- per non parlare del "rossetto" che usavano le nobildonne romane, che era a base di Carbonato di Piombo, quindi quando un Romano baciava una Romana assorbiva piombo

Di fronte a tale realtà sarebbe auspicabile che le Strutture Sanitarie non sottovalutano il problema delle malattie ambientali, predispongono strutture diagnostiche di medicina molecolare avanzata, ambulatori per diagnosi e cure

- *DOVE la mente non conosce paura
e la testa è tenuta ben alta;
DOVE il sapere è libero;
DOVE il mondo non è stato frammentato
entro anguste mura domestiche;
DOVE le parole sgorgano
dal profondo della verità;
DOVE lo sforzo incessante tende le braccia
verso la perfezione;
DOVE il limpido fiume della ragione
non ha smarrito la via
nell'arida sabbia del deserto
delle morte abitudini;
DOVE tu guidi innanzi la ragione
verso pensieri e azioni sempre più ampi;
in quel cielo di libertà, PADRE,
fa che il mio paese si desti (Tagore)*