

Corso di Laurea Magistrale in  
“**BIOLOGIA PER LA SOSTENIBILITÀ**”

Anno Accademico 2023-2024



# Igiene del'ambiente e del territorio

Prof.ssa Valeria Di Onofrio

*valeria.dionofrio@uniparthenope.it*



# SIS

Scuola Interdipartimentale  
delle **Scienze**, dell'**Ingegneria**  
e della **Salute**

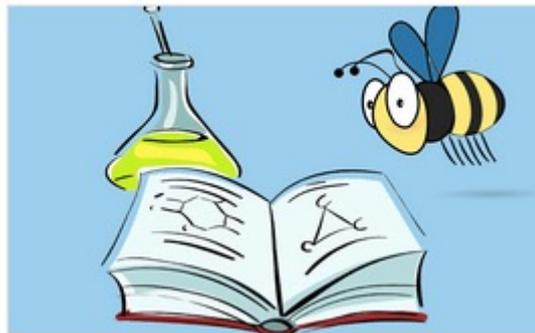
**DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE (DIST)**

# BIOINDICATORI

*Come si manifestano gli effetti del cambiamento ambientale sugli organismi?*

*Attraverso:*

reazioni identificabili di tipo ecologico, comportamentale, biochimico, fisiologico, morfologico (bioindicatori propriamente detti) con capacità di accumulare dai diversi comparti ambientali (aria, acqua, suolo) quantità misurabili di contaminanti (bioaccumulatori e biomonitors)



# CARATTERISTICHE NECESSARIE

- optimum ecologico ed ampia distribuzione nell'area di studio
- facile identificazione sistematica
- buone conoscenze su anatomia, fisiologia ed ecologia della specie
- uniformità genetica e lungo ciclo vitale (ma in casi particolari si usano anche microrganismi)
- facile reperibilità in tutte le stagioni (ma in casi particolari si usano anche organismi a ciclo stagionale)
- scarsa mobilità (stanzialità), ad eccezione dei bioindicatori su scala globale

## **...ed ancora**

- ✓ il ruolo ecologico che lo predispone all'impatto con i contaminanti
- ✓ le risposte che è in grado di fornire

# DISTRIBUZIONE AMBIENTALE

Le sostanze chimiche introdotte nell'ambiente per specifici scopi ed in varie maniere si muoveranno dal punto di entrata (fase ambientale: aria, acqua, suolo) verso la loro destinazione finale, ossia **il comparto ambientale per il quale hanno la maggiore affinità.**

**Tale comparto** può bloccare o semplicemente fungere da serbatoio cosicché le sostanze chimiche possono essere trasferite nuovamente verso altri comparti. In esso vanno incontro a **trasformazioni.**

# DISTRIBUZIONE AMBIENTALE

## Processi a cui può andare incontro una molecola di inquinante

- **Volatilizzazione**
- **Trasporto:**
  - lisciviazione, dilavamento, trasporto via corrente
- **Immobilizzazione:**
  - **Assorbimento** avviene principalmente nel biota
  - **Adsorbimento** avviene principalmente sulle superfici di particolato sospeso, sedimenti e suolo.
  - **A differenza delle molecole assorbite, le molecole adsorbite possono ancora essere degradate.**
- **Degradazione:**
  - **Chimica:** idrolisi, ossidazione and riduzione
  - **Fisica:** fotolisi, dissociazione e ionizzazione
  - **Biologica:** biodegradazione, metabolizzazione

# DISTRIBUZIONE AMBIENTALE

Le proprietà chimico-fisiche degli inquinanti e le caratteristiche del comparto abiotico determinano quanto tempo ed in che forma una sostanza si troverà o si muoverà da/per un dato comparto.

- **Persistenza:** è il tempo di permanenza di un inquinante in un determinato comparto, qualunque sia la via cui questo viene rimosso (degradazione, trasporto di massa, assorbimento).
- **Resistenza alla degradazione:** capacità di una sostanza di rimanere in forma inalterata nell'ambiente. È rappresentata dal tempo di dimezzamento (halphlife).

# DISTRIBUZIONE AMBIENTALE

## **BIODEGRADAZIONE**

### **Detossificazione**

**La biodegradazione primaria dovrebbe portare direttamente a composti meno tossici di quelli iniziali. La biodegradazione primaria può portare a prodotti più tossici, ma meno stabili e più facilmente degradabili.**

**Principali biotrasformazioni che avvengono nelle biodegradazioni: OSSIDAZIONI, RIDUZIONI, IDROLISI.**

**Con queste reazioni lo xenobiotico viene trasformato in composti strutturalmente più simili ai composti usualmente metabolizzati dal microorganismo, il quale poi li degrada nel suo normale ciclo metabolico.**

# DISTRIBUZIONE AMBIENTALE

- **La prima fase nell'analisi del rischio**
  - l'identificazione del pericolo delle sostanze chimiche (*hazard identification*) ed il loro potenziale destino nell'ambiente.
- **diviene importante conoscere**
  - le proprietà fisiche, chimiche, di bioaccumulo e tossicologiche delle sostanze in esame
- **per valutare il rischio della loro presenza nell'ambiente**

# DISTRIBUZIONE AMBIENTALE

## Trasporto e Destino in ambienti acquatici

- Biodegradazione
- Fotodegradazione
- Bioaccumulo in organismi acquatici
- Volatilizzazione
- Adsorbimento su solidi sospesi e sedimenti

# PERICOLOSITÀ E DESTINO AMBIENTALE SOSTANZE CHIMICHE

## SOLUBILITÀ

- è uno dei più importanti fattori che determinano il trasporto degli inquinanti. Rappresenta la capacità di una sostanza di sciogliersi in acqua
  - viene indicata dal rapporto tra la quantità soluto ed il volume del solvente, nella pratica ambientale rappresentato dall'acqua.
- è un parametro caratteristico della sostanza
  - che varia al variare delle condizioni di temperatura e di pressione e viene generalmente espresso in mg/l o in moli/l.

# PERICOLOSITÀ E DESTINO AMBIENTALE SOSTANZE CHIMICHE

## SOLUBILITÀ

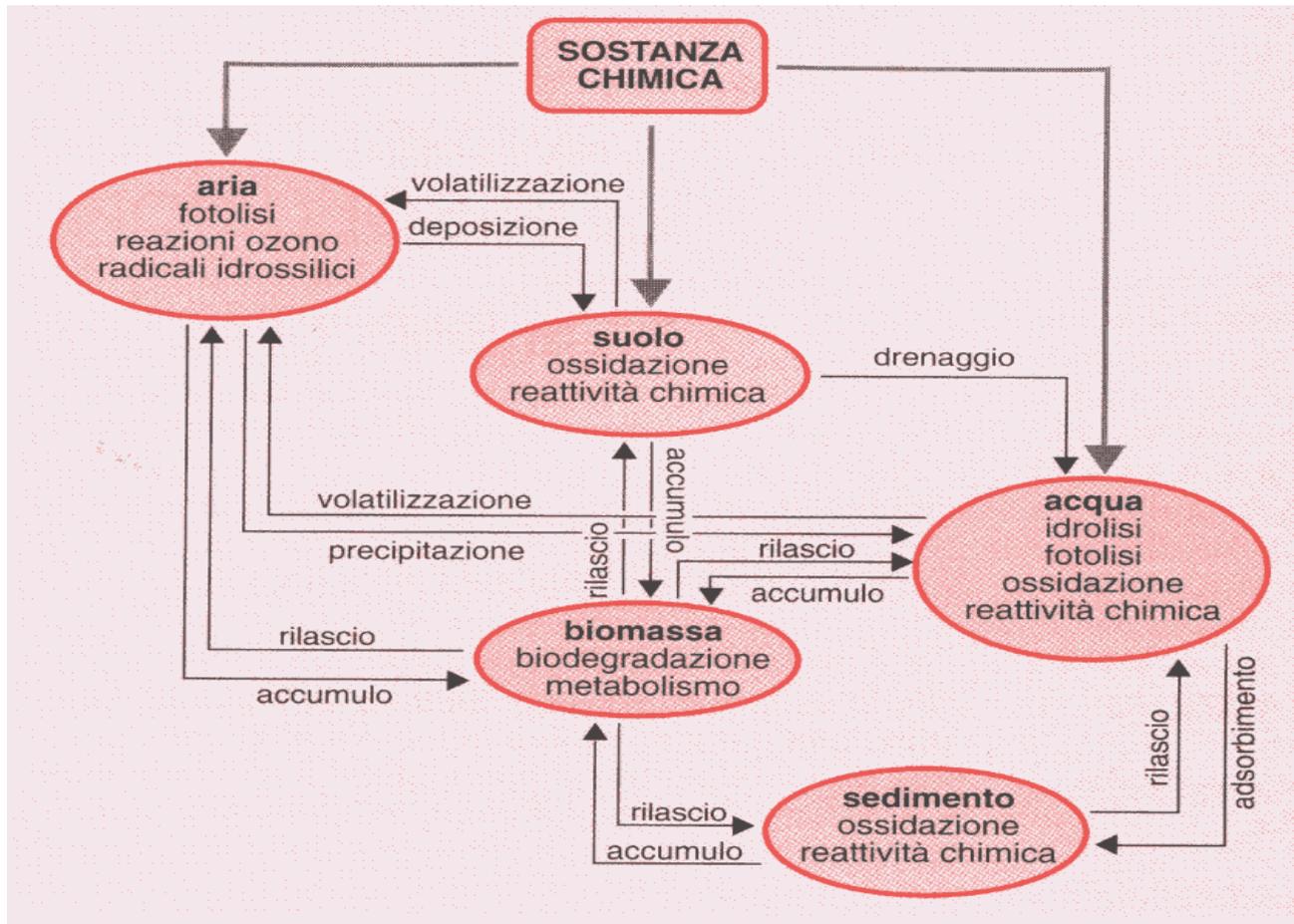
- **Sostanze ioniche e polari**
  - si dissolvono in acqua
- **Sostanze non-polari o debolmente polari**
  - si dissociano in acqua in percentuali molto basse.
- **Sostanze ambientalmente pericolose** come diossine, PCBs ed alcuni pesticidi organici clorurati,
  - sono debolmente disciolti in acqua.

# PERICOLOSITÀ E DESTINO AMBIENTALE SOSTANZE CHIMICHE

## PARAMETRI DI BIOACCUMULO

- **La modellizzazione del processo di bioaccumulo è molto complessa perché tiene conto di diversi fenomeni:**
- **Uptake**
  - è il fenomeno che indica il movimento del contaminante all'interno dell'organismo e può interessare le branchie, l'intestino, l'epidermide la superficie polmonare, le radici, le foglie etc.
- **Biotrasformazione**
  - all'interno dell'organismo la sostanza chimica può essere trasformata.
- **Eliminazione**
  - è l'escrezione del contaminante dall'organismo. I processi di eliminazione variano molto tra piante, invertebrati, vertebrati e a seconda della sostanza.
- **La biotrasformazione e l'eliminazione** sono due processi che indicano un abbassamento della concentrazione di contaminante all'interno dell'organismo.

# MECCANISMI DI TRASPORTO NEI DIVERSI COMPARTI AMBIENTALI



# **STUDI di TOSSICITÀ SPERIMENTALE**

---

## SOSTANZA



Studi di tossicità  
sperimentale

Studi epidemiologici  
Farmacovigilanza

Relazione  
struttura-attività

Studi di ecotossicologia

Caratteristiche fisiche  
e chimiche

## IDENTIFICAZIONE E VALUTAZIONE DELLA PERICOLOSITA'



Tossica



Simile a carcinogeni  
noti



Persistente nell'ambiente  
Tossico per vita acquatica



Esplosiva  
Infiammabile

**STIMA  
DELL'ESPOSIZIONE**



## VALUTAZIONE DEL RISCHIO<sup>1</sup> ANALISI RISCHIO/BENEFICIO



<sup>1</sup> Il concetto di Rischio è diverso da quello di pericolosità.

# FARMACI (SPECIALITA' MEDICINALI)

## 1) Studi pre-registrativi

- Per l'autorizzazione all'immissione in commercio (registrazione) sono richiesti studi tossicologici sperimentali.
- Il tipo di studi da effettuare e le modalità con cui vanno eseguiti sono definiti da apposite Linee Guida, in base alle modalità di utilizzo previste (durata, via di somministrazione, popolazione trattata) ed alla natura del farmaco (attività farmacologica, struttura chimica).
- Negli studi clinici pre-registrativi (fase I-III) si possono identificare gli effetti tossici più frequenti.

## 2) Studi post-marketing

Dopo l'immissione in commercio la tossicità nell'uomo nell'intera popolazione trattata e nelle condizioni di utilizzo reale viene monitorata tramite la **farmacovigilanza**.

La valutazione del rischio associato ad una sostanza, e le relative decisioni normative, dipendono da:

- quantità e qualità degli studi effettuati
- approccio all'interpretazione e valutazione dei dati degli studi; dipende da fattori socio-culturali ed economici.

# STUDI TOSSICOLOGICI

**Sperimentali.** Si somministra la sostanza con **precise modalità** (dose, tempo, via ecc.) e se ne studiano gli effetti tossici. Si effettuano su animali, colture cellulari, microrganismi.

**Epidemiologici.** Si studiano gli effetti di una sostanza su popolazioni umane che sono comunque esposte alla sostanza, presente nell'ambiente o somministrata a scopo terapeutico (farmaci, vaccini).

- **Intossicazione umana accidentale.** Deve essere possibile attribuire con certezza gli effetti osservati all'esposizione (imputabilità)

# STUDI SPERIMENTALI VS STUDI EPIDEMIOLOGICI

**Studi sperimentali.** L'esposizione alla sostanza è strettamente controllata. L'esposizione ad altre sostanze è eliminata o comunque controllata (gruppi di controllo).

**Studi epidemiologici.** L'esposizione non può essere controllata (tranne che per i farmaci). Gli individui sono contemporaneamente esposti a molte altre sostanze o condizioni che possono influenzare l'effetto tossico.

## STUDI TOSSICOLOGICI SPERIMENTALI

- Studi descrittivi. Osservazione e descrizione degli effetti tossici di una sostanza in **animali**, tessuti, cellule isolate, batteri. Servono per caratterizzare la tossicità di una sostanza (dose tossica, organi bersaglio ecc.), soprattutto al fine della stima del rischio. Sono necessari per ottenere l'autorizzazione all'immissione in commercio.

- Studi meccanicistici. Sono gli studi che cercano di chiarire il **meccanismo** con cui una sostanza produce un effetto tossico (es. inibizione enzimatica, agonismo recettoriale, formazioni di composti elettrofili ecc.). Non sono richiesti ai fini regolatori ma possono essere utili per stabilire se un effetto tossico osservato nell'animale si manifesterà o meno anche nell'uomo (es. pesticidi organofosforici, saccarina). Utili anche per il *drug design* di antidoti (es. pralidossima) o sostanze alternative più sicure.
- Studi teorici: relazione struttura-attività. Sono studi volti ad identificare, all'interno di una serie di molecole, i gruppi responsabili dell'effetto tossico. Per alcune classi di composti, sono molto utili per **prevedere** la tossicità di una molecola.

# STUDI DESCRITTIVI STUDI ANIMALI

- Lo scopo è definire il **profilo tossicologico** ⇒ valutazione del **rischio nell'uomo**.
- Storicamente, questi studi si sono evoluti in modo empirico.
- Accumulo di informazioni + progressi teorici in campo bio-farmacologico-tossicologico ⇒ elaborazione di **principi teorici**.

# PRINCIPI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI

Gli effetti di una sostanza, osservati negli animali in opportune condizioni, possono verificarsi anche nell'uomo.

- ✓ Cellule o tessuti di specie diverse, con funzioni e/o vie biochimiche simili hanno simile suscettibilità tossicologica, poiché posseggono lo stesso 'recettore' (recettori di membrana e intracellulari, canali ionici, pompe e trasportatori, enzimi, DNA ecc.)
- ✓ Differenze di tossicità tra specie simili (**mammiferi**) sono molto spesso dovuti a differenze nel metabolismo (attivazione/inattivazione) della sostanza.

# PRINCIPI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI

Gli animali più spesso utilizzati per gli studi di tossicità generale sono ratto e cane, nei quali il metabolismo è più simile a quello umano.

Per alcuni test di tossicità specifica (riproduttiva, tossicità locale) si usano altre specie di mammiferi, particolarmente sensibili a quel tipo di tossicità.

# PRINCIPI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI

Specie animali non mammifere (batteri, dafnia, echinodermi, drosofila, pesci) sono eticamente più accettabili ed economicamente più vantaggiose.

Tuttavia, a causa delle enormi differenze farmacocinetiche, i dati ottenuti con queste specie non possono essere estrapolati all'uomo.

Gli studi con queste specie possono però 'allertare' sul potenziale tossico di una sostanza ⇒ necessità di ulteriori studi.

# PRINCIPI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI

Per identificare con sicurezza gli effetti tossici di una sostanza negli animali da laboratorio è necessario somministrare alte dosi.

**L'uso di alte dosi è dovuto all'inevitabile limitatezza del numero di animali su cui si effettuano i test.**

La risposta ad una data sostanza dipende infatti da:

- 1) dose somministrata;
- 2) sensibilità individuale.

# ESEMPIO

Supponiamo che **ad una data dose** risponda lo 0,1% di individui (più sensibili). Se l'esperimento viene condotto con 100 animali, la risposta non viene rilevata.

Per essere ragionevolmente sicuri di osservare la risposta **con quella dose**, l'esperimento dovrebbe essere condotto con almeno 5.000 animali.

Aumentando la dose, risponderà una percentuale maggiore di individui (anche quelli meno sensibili).

L'uso di dosi 'elevate' (rispetto a quelle previste nell'uomo) consente quindi di osservare una risposta con un numero 'ragionevole' di animali.

# PRINCIPI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI

*L'estrapolazione ai livelli di esposizione nell'uomo (in genere molto più bassi) può tuttavia essere problematica (soprattutto cancerogenesi).*

## **Tossicità e sicurezza**

Con gli studi descrittivi si cerca di individuare **l'intervallo di dosi tossiche**. È possibile determinare l'intervallo di dosi presumibilmente "sicuro" nell'uomo?

- ✓ Esiste, per ogni sostanza una dose (concentrazione) soglia al di sotto della quale non si hanno effetti sui sistemi biologici?
- ✓ Estrapolazione animale → uomo: differenze metaboliche; minore variabilità interindividuale negli animali da laboratorio.
- ✓ Estrapolazione a basse dosi: qual è la forma della curva estrapolata? (cancerogenesi)

**In generale**, gli studi di tossicità non sono concepiti per dimostrare che una sostanza è sicura, ma per **caratterizzarne gli effetti tossici** e consentire quindi una valutazione del rischio nell'uomo, che dipende anche da molti altri fattori (esposizione, caratteristiche della popolazione esposta ecc.).

**N.B:** il rischio è un concetto probabilistico: frequenza attesa di effetti.

# OBIETTIVI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI ANIMALI

Natura degli effetti tossici

Relazione dose-effetto (*range* di tossicità, ipersensibilità)

Fattori influenzanti la tossicità (specie, ceppo, sesso, età, modalità di somministrazione ecc.)



Valutazione del rischio

# **NATURA DELL'EFFETTO TOSSICO**

## **Organi bersaglio.**

La tossicità a carico di un organo dipende dalla capacità rigenerativa dell'organo, dalla sua dipendenza dal mantenimento dell'omeostasi, da fattori tossicocinetici (sito di assorbimento, metabolismo, accumulo, eliminazione).

Gli organi più frequentemente colpiti sono: SNC, sistema ematopoietico, fegato, rene, polmone, cute.

# **NATURA DELL'EFFETTO**

## **Comparsa dell'effetto.**

Tossicità immediata (citotossicità, tossicità funzionale).

Tossicità ritardata (genotossicità, tossicità funzionale).

## **Reversibilità dell'effetto.**

Dipende dal tipo di tossicità e dall'organo bersaglio.

## **Relazione dose-effetto. Curve dose-risposta**

Forma della curva. Iper-reattività. Pendenza della curva.

**Dose efficace 50 (DE50).** È la dose con la quale si ha:

- una risposta pari al 50% dell'effetto massimo
- una risposta nel 50% dei soggetti

**Dose soglia.** È la dose al di sotto della quale non si manifesta tossicità.

Dipende dal tipo di tossicità in esame.

È la base per estrapolare i limiti di sicurezza.

**DE50 e dose soglia sono una misura della potenza di un tossico.**

## Fattori influenzanti la tossicità

**Specie animale**

**Ceppo**

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

## Modalità di somministrazione

**La tossicità di una sostanza è funzione di:**

**I. DOSE x ESPOSIZIONE**

***II. Via di esposizione***

***III. Durata***

***IV. Frequenza***

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

## **Via di esposizione**

La **tossicità** di una sostanza **dipende dalla via di somministrazione.**

L'ordine di tossicità è: endovenosa, inalatoria, intraperitoneale, sottocutanea, intramuscolare, orale, cutanea.

Negli studi di tossicità acuta si utilizzano due vie (farmaci), di cui una è quella prevista nell'uomo.

Negli studi di tossicità prolungata e cronica si usa quasi sempre la via orale.

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

## **Durata e frequenza dell'esposizione**

La tossicità di una determinata dose aumenta all'aumentare della **durata e della frequenza dell'esposizione**, a causa di due fenomeni:

- accumulo del tossico nell'organismo; si ha quando la velocità di somministrazione (frequenza) è maggiore della velocità di eliminazione e la durata è tale che il tossico raggiunge livelli dannosi.
- accumulo del danno; la velocità di somministrazione (frequenza) è maggiore della velocità di riparazione del danno da parte dell'organismo.

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

- ✓ Se la frequenza di somministrazione è tale che la velocità di somministrazione è maggiore della velocità di eliminazione  $\Rightarrow$  accumulo del tossico e raggiungimento dello stato stazionario.
- ✓ Il raggiungimento dello stato stazionario dipende dall'emivita del tossico e dalla frequenza di somministrazione. Per aversi stato stazionario, il tossico deve essere somministrato ad intervalli di tempo inferiori a 5 emivite.
- ✓ È quindi importante conoscere l'emivita del tossico per prevedere l'entità dell'esposizione.

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

**Si può avere accumulo del danno anche senza accumulo del tossico.** Infatti il tempo di recupero del danno è spesso maggiore del tempo necessario all'eliminazione del tossico dall'organismo.

Ad es., la somministrazione di etanolo causa deposito di lipidi nel fegato (steatosi); il tempo necessario per la scomparsa dei depositi di grasso epatici è molto più lungo di quello necessario all'eliminazione dell'etanolo.

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

Per definire una dose tossica, un intervallo di dosi tossiche, è necessario indicare la durata dell'esposizione.

Frequenza: negli studi prolungati, la sostanza viene in genere aggiunta al cibo (o all'acqua) ⇒ frequenza di somministrazione elevata. In caso di somministrazione parenterale, in genere 1 somministrazione/giorno.

# FATTORI INFLUENZANTI LA TOSSICITÀ

## **Controlli.**

È necessario avere un gruppo di controllo, per:

- ✓ **incidenza di effetti (patologie) non indotti dalla sostanza (fattori congeniti e/o ambientali) ⇒ comparazione statistica.**