

# **APPUNTI DI MEDICINA AMBIENTALE**

**Le Basi per il Medico Pratico, il  
Farmacista, il Biologo, lo  
Studiante universitario, il  
Naturopata, la Persona curiosa  
ed il Malato di Sensibilità  
Chimica Multipla**

ANDREA VANNOZZI

**2023**

ANDREA VANNOZZI



# **APPUNTI DI MEDICINA AMBIENTALE**

**Le Basi per il Medico Pratico, il Farmacista, il  
Biologo, lo Studente universitario, il  
Naturopata, la Persona curiosa ed  
il Malato di Sensibilità Chimica Multipla**

# 2023



Un particolare ringraziamento al Collega Dr. Antonio Maria Pasciuto  
Specialista in Medicina Interna; esperto in Medicina Ambientale Clinica. Membro del  
Consiglio Direttivo di Europaem (Accademia europea di Medicina Ambientale);  
presidente di Assimas (Associazione Italiana Medicina Ambiente e Salute). Con il suo  
entusiasmo ha condotto me e tanti altri Colleghi nel mondo della Medicina  
Ambientale Clinica. La maggior parte del materiale di questa dispensa viene dai suoi  
insegnamenti.

# INDICE



<b>Prefazione.....</b>	<b>pag. 5</b>
<b>Infiammazione cronica di basso grado.....</b>	<b>pag. 7</b>
<b>Stress Ossidativo.....</b>	<b>pag. 14</b>
<b>Mitocondriopatie.....</b>	<b>pag. 20</b>
<b>Biotrasformazione.....</b>	<b>pag. 24</b>
<b>Genetica ed Epigenetica.....</b>	<b>pag. 26</b>
<b>I processi di metilazione.....</b>	<b>pag. 28</b>
<b>Vitamina B12 o Cobalamina.....</b>	<b>pag. 31</b>
<b>Glutazione.....</b>	<b>pag. 33</b>
<b>Vitamina C o Acido Ascorbico.....</b>	<b>pag. 37</b>
<b>Oligoelementi.....</b>	<b>pag. 38</b>
<b>Metallotioneine.....</b>	<b>pag. 38</b>
<b>Zinco.....</b>	<b>pag. 38</b>
<b>Rame.....</b>	<b>pag. 40</b>
<b>Manganese.....</b>	<b>pag. 41</b>
<b>Selenio.....</b>	<b>pag. 41</b>
<b>Disglicemia ed AGEs.....</b>	<b>pag. 43</b>
<b>Metallo proteasi.....</b>	<b>pag. 46</b>
<b>Nitrosammine.....</b>	<b>pag. 47</b>
<b>Polimorfismi genetici a singolo nucleotide.....</b>	<b>pag. 48</b>
<b>Microbiota intestinale.....</b>	<b>pag. 52</b>
• <b>Generalità.....</b>	<b>pag.52</b>
• <b>Come si forma il Microbiota intestinale?.....</b>	<b>pag.53</b>
• <b>Apparato digerente e Microbiota.....</b>	<b>pag.53</b>
• <b>Concetti importanti riguardo il Microbiota.....</b>	<b>pag.54</b>
• <b>Microbiota Ph intestinale ed Acido Butirrico.....</b>	<b>pag.56</b>
• <b>Microbiota e fibra alimentare.....</b>	<b>pag.57</b>
• <b>Prebiotici Probiotici e Postbiotici.....</b>	<b>pag.58</b>
• <b>Microbiota e senescenza.....</b>	<b>pag.58</b>

- Disbiosi intestinale.....pag.59
- Parete intestinale ed infiammazione.....pag.60
- Esami nella Sindrome dell'intestino permeabile.....pag.60
- Disbiosi da Candida.....pag.61
- Microbiota, obesità, sindrome metabolica e Diabete tipo 2....pag.63
- Microbiota e Diabete tipo 1.....pag.63
- Microbiota ed aterosclerosi.....pag.63
- Microbiota ed ipertensione arteriosa.....pag.64
- Microbiota e steatosi epatica.....pag.64
- Microbiota e malattie croniche intestinali.....pag.64
- Disbiosi intestinale e malattie neurologiche.....pag.65
- Correlazione tra dieta ed infiammazione.....pag.66

**Sensibilità chimica multipla.....pag. 67**

- Criteri diagnostici.....pag.67
- Sintomi.....pag.68
- Patogenesi della MCS e ciclo NO/ONOO<sup>-</sup>.....pag.70
- La Diagnosi.....pag.73
- Esami importanti.....pag.76
- La terapia.....pag.80
- L'integrazione con Vitamine, Oligoelementi e farmaci.....pag.83
- Le terapie complementari.....pag.84

**Mineralogramma.....pag. 85**

**Metalli pesanti.....pag. 86**

**Mercurio ed amalgama.....pag. 88**

**Piombo.....pag. 89**

**Interferenti endocrini.....pag. 90**

**Formaldeide.....pag. 95**

**Le Muffe..... pag. 96**

**Particolato (polveri sottili) .....pag. 98**

**Inquinamento Indoor.....pag. 99**

**Monitoraggio ambientale.....pag. 106**

**Principio di precauzione.....pag. 107**

**PFAS in breve.....pag. 108**

**Limiti di riferimento.....pag. 115**

**Lecture consigliate.....pag. 116**

# Prefazione

## La Medicina ambientale per il Medico Pratico

Oggi è abbastanza diffusa la consapevolezza che molte delle patologie presenti nel territorio siano causate o influenzate dall'inquinamento ambientale. Questa consapevolezza è presente sia nel cittadino, che quindi richiede gli adeguati comportamenti sanitari di diagnosi e cura, sia nel medico, che però si trova in una situazione di impotenza, riguardo soprattutto l'aspetto diagnostico. La preparazione universitaria, le specializzazioni ed i normali corsi di aggiornamento raramente rispondono all'esigenza di colmare questa lacuna. È quindi molto forte la tentazione di affidare ad uno specialista il paziente che pone la domanda scomoda: "I miei disturbi, possono derivare dall'ambiente?". A questo punto subentra la difficoltà di individuare il corretto Collega di riferimento: è il Tossicologo? probabilmente no, dato che questo specialista è preparato per lo più riguardo la Medicina del lavoro o nell'ambito della Medicina preventiva e d'urgenza, cioè riguardo le intossicazioni acute con sintomi caratteristici ben rilevabili. Il paziente del Medico Pratico invece si presenta spesso con un corredo di sintomi non specifici: ansia, insonnia, nervosismo, parestesie, astenia, palpitazioni, difficoltà di concentrazione e di memoria, associati a sintomi talvolta più gravi e strani come vertigini, dispnea, disturbi visivi, coliti, cistalgie, tosse e raucedine persistenti, prurito migrante. Gli esami di routine sono spesso negativi e quindi non aiutano nella diagnosi. Purtroppo il metodo di lavoro del Medico Pratico non è adatto alla diagnosi delle malattie ambientali, perché di solito viene formulata in prima istanza una diagnosi in base alla specificità e alla sede dei sintomi riferiti, aiutandosi con una breve anamnesi. Nelle malattie ambientali, come d'altronde in tante malattie croniche e nell'invecchiamento, molto spesso manca la specificità dei sintomi e la localizzazione. L'anamnesi, soprattutto nei casi dove l'esame obiettivo si riveli negativo o incongruente rispetto alla sintomatologia, deve quindi essere molto più approfondita ed ampliata all'ambiente (casa e lavoro) ed alla storia clinica ed odontoiatrica del paziente risalendo fino all'infanzia e quando possibile ricostruendo la gestazione della madre e la storia dei genitori. Per fare questo e poi orientarsi, è necessario avere quindi chiari dei concetti di base, non molti, sull'equilibrio tra l'uomo e l'ambiente e sui principali meccanismi patogenetici che gli inquinanti possono scatenare. Solo una volta che questi concetti siano stati acquisiti e diventino patrimonio costante del ragionamento medico si può cominciare a riconoscere la possibile etiologia ambientale (in senso ampio, comprendendo anche l'alimentazione) della patologia presentata dal paziente. Solo a questo punto è logico passare a studiare la parte speciale, cioè i danni causati dagli xenobiotici e la casistica ad essi correlata. La pretesa di questi appunti è proprio quella di supportare il Medico pratico in questo percorso di conoscenza approfondita dei meccanismi che si attivano nelle malattie croniche collegate all'ambiente. Questo percorso, per non risultare troppo pesante o carico di formule chimiche, privilegia i concetti, selezionando le informazioni più importanti e concatenate fra loro, in modo di non dover ricorrere continuamente a ricerche per comprendere la catena causale degli eventi patologici. Questa dispensa è dunque stata pensata per il Medico Pratico che non ha né il tempo né la volontà di diventare uno specialista della Medicina ambientale. Per questa scelta ritengo che non sia adatta al Medico già esperto, perché ha già fatto in proprio questo percorso attraverso libri specializzati, corsi importanti di formazione, conferenze di settore e soprattutto tramite il confronto con i Colleghi, direttamente o attraverso i pazienti studiati. A prescindere comunque dalla Medicina ambientale, le conoscenze basilari riportate nella dispensa risulteranno un arricchimento anche nella pratica quotidiana. Ho fatto il Medico di famiglia per 42 anni e spesso, soprattutto nelle malattie croniche e nei disturbi collegati all'invecchiamento, l'atteggiamento medico che ho potuto mettere in pratica era prevalentemente di tipo empirico, cioè provo a dare una cura, soprattutto laddove non vi siano dei protocolli ed una diagnosi precisa, e mi baso su quello che il paziente mi riferisce riguardo il possibile miglioramento. Sappiamo tutti quanto l'effetto placebo influisca sulla risposta del paziente, soprattutto se c'è empatia con il curante, ed oggi la moderna psico-neuro-endocrino-immunologia (PNEI) ci sta dando le

prime risposte anche nel comprendere questo fenomeno (\*), però avere a disposizione delle analisi, come quelle che riporto in questi appunti, aiuta a comprendere cosa stia accadendo all'interno dell'organismo e, se c'è un miglioramento delle analisi, posso anche avere la conferma che l'intervento che sto attuando sia in qualche modo efficace a contrastare i meccanismi patologici.

Ho voluto titolare questa dispensa "Appunti di Medicina ambientale" perché è il frutto di anni di annotazioni varie in diversi quaderni, tramite corsi, congressi, articoli di varia natura, ore passate a studiare per comprendere argomenti mai trattati prima o dimenticati dai tempi dell'università, annotazioni osservazionali di colleghi, input derivati da medicine complementari (in questo caso riportati nel testo al condizionale). Ho poi rielaborato i contenuti scegliendo gli argomenti più adatti, sperando di essere arrivato ad una sintesi chiara e soprattutto utile.

Per chi dalla lettura degli Appunti dovesse sentirsi stimolato ad approfondire la materia, consiglio un corso di Medicina Ambientale Clinica. Io ho frequentato il corso di ASSIMAS (<https://assimas.it/>), un'associazione che ha il compito di formare il Medico per le future sfide che l'ambiente ci riserverà.

(\*) "Non possiamo più attribuire alle emozioni ed agli atteggiamenti mentali minore validità che alla sostanza fisica, anzi, dobbiamo considerarli segnali coinvolti nel processo di traduzione delle informazioni in realtà fisica, che trasformano realmente la mente in materia"

Candace Pert

# Infiemmazione cronica di basso grado



Alla nostra nascita, la prima cosa che il sistema immunitario deve imparare, quando viene in contatto con l'ambiente circostante, è distinguere tra ciò che è nocivo e ciò che è indispensabile. Questo contatto è mediato dal Microbiota, cioè quel corredo di germi presente in tutti i tessuti, in particolare in quello intestinale. Viene chiamato "self" tutto ciò che entra a comporre l'individuo o a relazionarsi vantaggiosamente con esso, mentre prende il nome di "non self" tutto ciò che è considerato estraneo e quindi da eliminare, perché dannoso. Il sistema immunitario ha il compito di distinguere tra "self" e "non self" e di attaccare, con vari meccanismi frutto dell'evoluzione, il "non self". L'insieme dei meccanismi con i quali l'organismo si difende da ciò che è estraneo prende il nome di **Infiemmazione** ed è patrimonio della conoscenza di ogni medico, che, nelle opportune circostanze, ne ricerca la presenza con il dosaggio di alcuni esami del sangue come PCR, VES, Emocromo, Fibrinogeno ecc.

L'assenza di alterazione di questi indici, porta ad escludere la presenza di infiemmeazione, ma ciò non tiene presente una recente acquisizione, cioè la cosiddetta "**infiammazione cronica di basso grado**" da alcuni chiamata anche "infiammazione cronica silente". Cercheremo quindi di spiegare questo concetto partendo dalle acquisizioni già consolidate.

Molti ritengono che la prima causa di infiemmeazione cronica di basso grado sia la **Disbiosi intestinale**, perché altera il Microbiota. Il Microbiota intestinale vive in simbiosi con la parete intestinale fornendo nutrimento ed informazioni. Ogni individuo ha un Microbiota caratteristico e la relazione tra questo e la parete intestinale è mediata dal sistema immunitario presente in loco, che è denominato GALT (gut associated Lymphoid tissue). Il normale Microbiota non viene attaccato dal sistema immunitario e ciò vuol dire che le informazioni che passa alla parete intestinale sono tali da farlo identificare come "self". Endotelio e Microbiota si scambiano informazioni attraverso la produzione di sostanze chimiche formando un **Ecosistema** che protegge la parete e l'endotelio. Quando però viene introdotta qualche sostanza nociva o germe patogeno, e ciò avviene sempre, il Microbiota, con le sue alterazioni, manda dei segnali alla parete intestinale che reagisce con i meccanismi dell'infiammazione. **L'infiammazione in sé, a livello intestinale, non corrisponde necessariamente ad una malattia, ma è uno dei meccanismi con i quali l'organismo cerca di riequilibrare la normale omeostasi.** Entro una certa misura è dunque un meccanismo fisiologico. Può succedere però che il concorrere di vari elementi nocivi, provochi uno stato di infiemmeazione persistente e ciò innesca dei gravi problemi. Viene meno l'integrità della parete e dell'endotelio e di conseguenza anche la capacità del sistema immunitario di distinguere tra le strutture "self" e "non self", con conseguenti allergie e malattie immunitarie. La principale patologia conseguente a queste alterazioni viene chiamata **Sindrome dell'intestino permeabile (Leaky gut syndrome)** perché appunto la parete intestinale perde la sua capacità di barriera nei confronti delle sostanze estranee o dei germi. In particolare la penetrazione attraverso la parete di sostanze che altrimenti non sarebbero mai venute in contatto con il sistema immunitario, porta a reazioni verso sostanze simili presenti nell'organismo, soprattutto macro molecole proteiche che fanno parte di strutture tissutali, e quindi del "self" confondendo il sistema immunitario. Secondo alcuni ricercatori questa sarebbe la principale causa delle malattie croniche autoimmunitarie. Altre volte è il sistema immunitario che reagisce in maniera errata per cause genetiche ed epigenetiche, cioè indotte dall'ambiente. **Quando l'infiammazione persiste le cellule immunocompetenti producono sostanze pro infiammatorie che causano danni ed una sintomatologia atipica, con sintomi vaghi e non correlati tra loro, perché l'infiammazione si estende a vari organi ed apparati, spesso senza riscontri oggettivi alla visita medica.** Naturalmente per valutare se vi sia uno stato di infezione e infiemmeazione si fa il dosaggio nel sangue di VES, PCR ed Emocromo, ma pure in assenza di alterazioni di questi parametri è possibile che vi sia una infiemmeazione cronica di basso grado, che potrebbe essere individuata dosando le interleuchine IL-6, IL-1 e TNF (Tumor Necrosis Factor), che sono fattori pro infiammatori prodotti dalle cellule immunocompetenti come risposta a situazioni particolari indotte da germi, sostanze tossiche, campi elettromagnetici o situazioni metaboliche alterate, come in occasione di uno stress prolungato. Anche se la maggior parte dei medici e ricercatori ritiene che



la principale fonte di infiammazione cronica sia la Disbiosi intestinale, ci sono altre cause da tenere in considerazione. Tra queste molte sono sempre di origine intestinale come la Sindrome del colon irritabile, la Celiachia, la Gluten sensitivity, le tossicosi intestinali, l'eccesso di carboidrati nella dieta, l'eccesso cibi ricchi di grassi o proteici, come la carne, che, modificando il Ph intestinale, selezionano ed alterano il Microbiota.

Oltre ai problemi intestinali vi sono **altre cause conosciute di infiammazione cronica di basso grado**:

1) **Tutte le cause che provocano lo Stress ossidativo** (Virus, batteri, parassiti, pesticidi, biocidi, metalli pesanti, stress e radiazioni elettromagnetiche) perché questo fenomeno provoca:

- invecchiamento cellulare con liberazione di sostanze endogene secondaria a processi di riparazione o apoptosi cellulare.
- alterazioni del letto vascolare, in particolare della microcircolazione, con riduzione del flusso ematico ed ipossia cellulare, che causa danni cellulari e della parete vascolare con aterosclerosi.

2) **Tutte le cause che determinano iperinsulinemia ed insulino-resistenza**, favorite dall'eccesso di carboidrati e zuccheri nell'alimentazione. L'iperinsulinemia provoca una ipertrofia delle cellule adipose (adipociti) attraverso l'aumento della produzione degli acidi grassi che vanno ad infarcire gli adipociti. Questo fenomeno favorisce la necrosi cellulare tra le cellule del tessuto adiposo con un aumento dei macrofagi che lo infiltrano, producendo Citochine pro infiammatorie come interleuchina IL-6 e TNF. Vengono prodotte anche Citochine antinfiammatorie come interleuchina IL-10, ma in misura non equilibrata (soprattutto nel paziente diabetico, obeso e con ridotta resistenza insulinica e conseguente sindrome metabolica). Inoltre il tessuto adiposo produce già delle sostanze pro infiammatorie: le adipochine, che peggiorano la insulino resistenza. Anche il TNF ha l'effetto di peggiorare l'insulino resistenza ed aumentare quindi il problema.

3) **La produzione di Eicosanoidi**. Gli Eicosanoidi sono ormoni prodotti da tutte le cellule, che regolano l'attività del sistema immunitario, del cuore e del cervello. La loro produzione dipende dagli acidi grassi presenti nell'organismo che a loro volta dipendono soprattutto dal tipo di alimentazione. Gli Eicosanoidi possono essere prodotti dalle cellule coinvolte nell'infiammazione e possono avere attività pro infiammatoria o antinfiammatoria a seconda degli acidi grassi dai quali derivano. Gli acidi grassi omega 6 favoriscono la produzione di Eicosanoidi con attività pro infiammatoria mentre gli acidi grassi omega 3 favoriscono la produzione di Eicosanoidi con attività anti infiammatoria.

La linea degli acidi grassi polinsaturi omega 6 ha come precursore l'acido linoleico, che viene convertito in acido arachidonico da cui derivano sostanze pro infiammatorie (trombossano, prostaglandine PG 2, leucotrieni). Se la presenza degli Eicosanoidi pro infiammatori perdura si ha l'infiammazione cronica di basso grado. Bisogna tenere presente che gli acidi grassi polinsaturi omega 3, il cui precursore è l'ALA (Acido Alfa linoleico), vengono convertiti nell'organismo in DHA ed EPA, che hanno un'azione protettiva sulle strutture cellulari. Ma sia gli omega 3 che gli omega 6 vengono metabolizzati dagli stessi enzimi (desaturasi e elongasi) e quindi sono in competizione; soprattutto in situazioni di carenza degli omega 3, ne consegue una maggiore formazione di Eicosanoidi derivanti dall'acido Arachidonico e quindi pro infiammatori. Ci sono poi delle condizioni cliniche che favoriscono il deficit enzimatico e quindi aumentano l'azione degli omega 6. Queste condizioni sono: età (anziani e bambini sono sfavoriti), tabacco, alcool, resistenza insulinica, stress, infezioni virali, candidosi, obesità (diabete), diete troppo restrittive o digiuni, ecc.

Dalle precedenti considerazioni si capisce quanto sia importante lo studio, nella membrana cellulare, del rapporto tra omega 6 ed omega 3, che dovrebbe essere di 4:1, in quanto da questo dipende l'elasticità e la permeabilità delle membrane cellulari e mitocondriali. È molto importante quindi la conoscenza della situazione reale, che si può misurare con dei test appositi di **Lipidomica** come il Fat profile della

Liponutragen o il Lipodomic profile della Natrilix lab. (rapporto omega6/omega3, cioè AA/EPA, v.n. 1,5). L'alterazione di questi test può essere compatibile con una Infiammazione cronica di basso grado. Inoltre queste acquisizioni fanno comprendere quanto sia importante l'adeguato apporto di omega 3 e come l'alimentazione possa influenzare uno stato cronico di infiammazione.

4) Nell'infiammazione cronica di basso grado, come reazione, c'è un **aumento della produzione di cortisolo** che ha un effetto antinfiammatorio. Ma anche nelle **situazioni di stress prolungato**, dove la secrezione di cortisolo persiste aumentata a lungo, come pure avviene in qualsiasi situazione di infiammazione cronica, c'è un'alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi- surreni con aumento di CRF (Corticotropin releasing factor), che provoca una attivazione dei mastociti e la liberazione di Citochine pro infiammatorie e fattori di crescita cellulare.

5) **La Neuroinfiammazione.** Un aspetto particolare dell'infiammazione cronica di basso grado è quella che riguarda il Sistema Nervoso Centrale. Nel cervello e nel midollo spinale esiste la Microglia, che consiste in ampie zone di cellule immunocompetenti (circa il 10% dell'intera popolazione gliale) che hanno il compito di sorvegliare e difendere il Sistema Nervoso Centrale dall'attacco di microrganismi e sostanze tossiche in grado di superare la barriera ematoencefalica. Le cellule della Microglia sono normalmente quiescenti e si attivano quando percepiscono una modificazione dell'ambiente circostante, come l'aumento di proteine tossiche, di Purine (ATP, ADP), di glutammato e di sostanze tossiche come il lipopolisaccaride (presente alla superficie dei germi G- ed assorbito in caso di permeabilità intestinale). La Microglia attivata sostiene l'infiammazione attraverso la produzione di Citochine, che comporta, in caso di situazioni persistenti, la produzione in eccesso di Ossido Nitrico, l'inibizione della catena respiratoria mitocondriale, l'aumento della produzione dei ROS (vedi il capitolo sullo stress ossidativo) e la riduzione dell'attività neuronale fino alla perdita di funzione delle cellule nervose. Nelle malattie croniche è quindi spesso presente una infiammazione cronica di basso grado del SNC, responsabile del corredo di sintomi neurologici aspecifici, che può essere conseguente ad **alterazioni della barriera ematoencefalica** di origine tossica, per esempio secondaria all'uso di amalgama nelle otturazioni dentali, ma anche molte altre sostanze tossiche possono essere assorbite a causa della Disbiosi intestinale o con alimenti inquinati. Alterazioni della barriera ematoencefalica possono anche essere di origine traumatica, secondarie a distrazioni della colonna cervicale. Infine i danni all'endotelio ed alle cellule provocati dallo stress ossidativo provocano infiammazione. Per individuare una alterazione della barriera ematoencefalica si può fare il **dosaggio nel sangue della Proteina S-100**, normalmente non presente ed usata anche come marcatore tumorale nel Melanoma. Nei pazienti con esiti di traumi distorsivi della colonna cervicale si può instaurare una lassità dei legamenti del dente dell'epistrofeo provocando la Sindrome dell'Atlante ballerino con alterazioni meccaniche dell'arteria vertebrale e basilare e, alla flessione in avanti del capo, la compressione da parte dell'Atlante del midollo spinale. Ciò può compromettere la barriera ematoencefalica, tanto più se il paziente è sottoposto a lunghe sedute odontoiatriche con posizione forzata della colonna cervicale. Se poi durante queste sedute vengono asportate delle otturazioni con amalgama è più facile l'assorbimento del mercurio ed il passaggio nel Sistema Nervoso Centrale. Dentalscan ed altri metodi radiografici possono aiutare nella diagnosi. Secondo delle osservazioni il paziente con alterazioni della barriera ematoencefalica presenterebbe una simpaticotonia, cioè una attivazione del sistema neurovegetativo autonomo. I segni principali della simpaticotonia sono la vasocostrizione periferica con mani e piedi freddi, l'innalzamento della pressione arteriosa, la diminuzione di peso per scarso appetito, ritardo dello svuotamento gastrico, aumento della sudorazione, palpitazioni per tachicardia, insonnia, ansia, agitazione con stato di stress, eiaculazione precoce, midriasi.

Un altro aspetto molto importante è stato recentemente scoperto e cioè che esiste una barriera vascolare a livello del plesso coroideo, che deve rimanere sempre aperta per permettere il passaggio al SNC dei neuromediatori prodotti dall'intestino (es. Dopamina). In presenza di Disbiosi le sostanze infiammatorie che si accumulano nel sangue determinano la chiusura di questa barriera con conseguente alterazione del passaggio dei neuromediatori e disturbi comportamentali. La cura della Disbiosi con alimentazione, prebiotici e probiotici può determinare il miglioramento della sintomatologia neurologica. Ci sono esperienze in tal senso soprattutto nei disturbi comportamentali infantili.

6) **Inflammatione cronica di basso grado e depressione.** Le Citochine pro infiammatorie, sia quelle che superano la barriera ematoencefalica che quelle prodotte nel SNC a causa della neuroinfiammazione, si legano a vari recettori, specialmente a livello ipotalamico. In questo modo possono causare depressione e stanchezza. Inoltre le Citochine interferiscono sul metabolismo del triptofano, aminoacido essenziale, precursore della serotonina. Le Citochine pro infiammatorie, come TNF $\alpha$  e IFN $\gamma$ , causano un aumento intestinale dell'IDO (indolamin,2-3diossigenasi), enzima che favorisce la conversione del triptofano in Chinurenina invece che Serotonina. La Chinurenina ha un effetto neurotossico, un'azione sui recettori del Glutammato ed inibisce il trasporto del Triptofano nel SNC. Il calo di Serotonina comporta di conseguenza anche un calo della produzione di Melatonina con conseguenti disturbi del sonno. Dal Triptofano, oltre che la Serotonina, la Melatonina e la Chinurenina può derivare anche la Vitamina B3 o Niacina.

**Ma come inizia dunque l'infiammazione?** Sulle cellule presentanti l'antigene e sulle cellule dendritiche sono presenti dei recettori specifici chiamati Toll like Receptor. La stimolazione di questi recettori da parte di agenti infettanti o materiale proveniente da necrosi cellulare porta ad una cascata infiammatoria mediante l'attivazione del fattore di trascrizione NF-kB. **Che cosa è un "fattore di trascrizione"?** E una proteina che penetra all'interno del nucleo della cellula e lega il DNA in una regione specifica regolandone la trascrizione, cioè il primo passaggio di una serie di eventi che determinano l'espressione genica. Dal DNA, per stampo, si forma un filamento di RNA messaggero che, migrando nel citoplasma della cellula, determina la formazione di sequenze di aminoacidi, con la formazione di proteine, come le Citochine, che, nel caso del NF-kB, sono in grado di dare origine alla cascata di eventi infiammatori, che prende il nome di **Inflamosoma**. L'infiammazione determinata dal fattore di trascrizione NF-kB è implicata anche nei meccanismi di cancerogenesi, in quanto una infiammazione prolungata determina danni al DNA. **Come evolve l'infiammazione cronica di basso grado?** Se non subentrano dei fattori correttivi c'è un progressivo aumento dei radicali liberi per aumento delle reazioni mitocondriali di fosforilazione ossidativa. Ciò può portare allo Stress ossidativo con Mitocondriopatia, che può portare all'apoptosi cellulare o alla senescenza cellulare.

#### **Come sospettare e rilevare dunque la presenza di un'infiammazione cronica di basso grado?**

Ove si ravvedano sintomi non spiegabili con quadri clinici noti e documentabili, in presenza per esempio di dolori diffusi come nella sindrome fibromialgia o di sintomi riferibili al Sistema Nervoso Centrale, come un invecchiamento precoce, disturbi del sonno, della memoria, della concentrazione, si procede al consueto dosaggio nel sangue dei classici esami ematochimici noti, come la VES, la Proteina C reattiva e l'esame Emocromo, ma possono essere dosate nel sangue anche le principali Interleuchine pro infiammatorie: IL-6, IL-1 e il TNF, oltre alla PCR ad alta sensibilità. Altri dosaggi potrebbero essere il PAF e il BAF attraverso un finger test. il PAF è il fattore attivante le piastrine (Plateled Activating Factor), che è un mediatore chimico dell'infiammazione, oltre a stimolare l'aggregazione piastrinica induce vasodilatazione e contrazione della muscolatura liscia. Viene liberato dai globuli bianchi basofili. Il BAF è il fattore attivante i linfociti B. È conosciuto anche come ligando TNF, perché è una proteina che si lega ai recettori del TNF, partecipando quindi alle reazioni correlate appunto al TNF (Tumor necrosis Factor), Citochina pro infiammatoria. PAF e BAF vengono dosati con il Recaller test per valutare l'infiammazione correlata agli alimenti.

Collateralmente sono importanti gli esami relativi allo stress ossidativo e quelli relativi alla Lipidomica delle membrane cellulari.

Per quanto riguarda l'infiammazione della parete vascolare indotta dalla placca aterosclerotica è in fase di studio il dosaggio di **Lp-PLA<sub>2</sub>**. Quando c'è infiammazione delle pareti delle arterie l'enzima Lp-PLA<sub>2</sub>, che è prodotto all'interno della placca aterosclerotica da parte dei macrofagi che hanno fagocitato dei grassi, è elevato. Questo enzima è in grado di idrolizzare il PAF (Plateled Activating Factor) favorendone un'azione pro aterogena, inoltre scinde i fosfolipidi in fosfatidilcolina e ossida gli acidi grassi. Gli acidi grassi ossidati favoriscono la migrazione dei macrofagi nella parete con formazione di cellule schiumose che producono altro Lp-PLA<sub>2</sub>, con un circolo vizioso.

**Per chi vuole approfondire aggiungo una nota sul funzionamento del Sistema immunitario, i linfociti e le citochine.**

Immunità innata

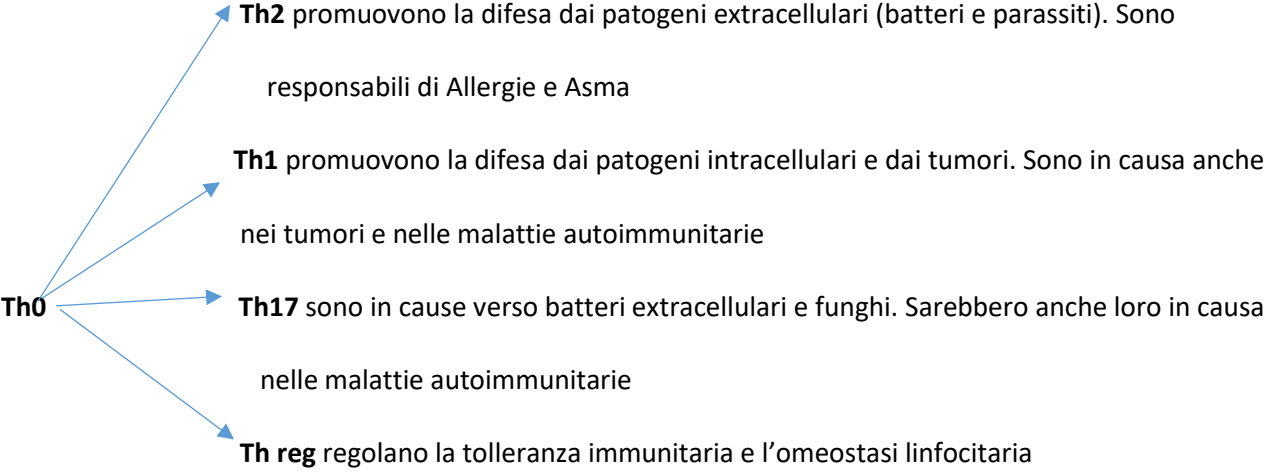
In tutte le barriere organiche rappresentate da epitelio o endotelio, nel connettivo sotto epiteliale o sotto endoteliale, il sistema immunitario è rappresentato da macrofagi (monociti, granulociti, istiociti, mastociti), che entrano in contatto con i microrganismi che riescono a superare la barriera, in quanto hanno dei recettori in grado di distinguere e legarsi ai principali antigeni di superficie microbici e quindi promuovono la fagocitosi dei germi ed innescano la produzione di Citochine con vari meccanismi di azione. Per esempio l'Interferone è una citochina antivirale. Altre Citochine attivano invece le cellule NK (Natural Killer), che sono così in grado di uccidere le cellule infettate dai virus. Altre Citochine attivano il Complemento contro i microbi che dovessero riuscire ad entrare in circolo, provocandone la lisi. L'immunità innata è importante soprattutto nella difesa dalle malattie acute e subacute. Le varie citochine sono poi in grado di attivare l'immunità adattiva contro i microbi che dovessero sopravvivere.

Immunità adattiva

È abbastanza noto come i **Linfociti B** possano riconoscere ciascuno un solo antigene. Quando lo incontrano vanno incontro ad una espansione clonale, differenziandosi in plasmacellule in grado di produrre anticorpi specifici per quell'antigene. I linfociti B però riconoscono solo gli antigeni circolanti, cioè quelli che si trovano all'esterno delle cellule, e danno origine ad anticorpi circolanti. Quando virus o batteri penetrano invece all'interno delle cellule non sono attaccabili da anticorpi circolanti e quindi la risposta immunitaria avviene tramite i **linfociti T citotossici, quelli della risposta immunitaria cellulo-mediata**. Essi riconoscono la cellula infetta perché questa ha in superficie un frammento antigenico del germe infettante (legato al complesso maggiore di istocompatibilità presente alla superficie cellulare). La risposta che ne consegue può essere di immediata uccisione della cellula, e ciò avviene da parte di linfociti T citotossici in presenza di un antigene di istocompatibilità MHC di tipo 1 (presente in tutte le cellule nucleate). Se però alla superficie della cellula è presente l'antigene di istocompatibilità MHC di tipo 2, come nel caso delle cellule immunocompetenti, come le cellule presentanti l'antigene e le cellule Natural killer, intervengono i **linfociti T helper (CD4)**, che reagendo con l'antigene danno inizio ad una reazione immunitaria che attiva altre cellule dell'apparato immunitario, come linfociti B e macrofagi. Queste cellule producono delle sostanze: **le interleuchine, in grado di modulare e regolare la risposta immunitaria**. I linfociti T helper si differenziano a seconda del tipo di antigene con il quale vengono in contatto e della presenza di Citochine a causa della reazione antinfiammatoria scatenata dal sistema immunitario (immunità innata). I termini "Citochine" e "Interleuchine" sono spesso usati come sinonimi e si riferiscono a particolari sostanze prodotte dal sistema immunitario. Il termine Citochine è più antico ed ingloba un po' tutta la categoria dei mediatori dell'infiammazione, mentre oggi, aumentando le conoscenze, si tende a differenziare in base alla funzione e quindi le Interleuchine (IL) sono classificate come un gruppo di Citochine in base alla modalità di azione. **Esistono Interleuchine pro infiammatorie Interleuchine anti infiammatorie**. Di solito all'inizio di un'infiammazione acuta viene prodotta prima l'interleuchina IL-1 e il TNF e dopo 4-6 ore l'interleuchina IL-6. Per ridurre l'infiammazione acuta e riportare in equilibrio il sistema viene prodotta l'interleuchina IL-10, che ha un effetto anti infiammatorio, ma se manca la giusta sequenza tra le Citochine pro ed anti infiammatorie si può instaurare una produzione persistente di IL pro infiammatorie ed una infiammazione persistente. Le principali IL sono l'Interferone, Il fattore di crescita (Transforming growth factor) TGF, il TNF ed hanno il compito di unire il sistema immunitario innato con quello adattivo, ma ciò avviene in un modo molto complesso, sequenziale, sinergico o antagonista. La risposta dell'immunità adattiva è quindi molto complessa ed avviene soprattutto attraverso 4 meccanismi: 1) produzione di anticorpi specifici che promuovono l'ingestione e l'uccisione da parte dei fagociti dei germi patogeni 2) le cellule fagocitiche, che ingeriscono ed uccidono i microbi con l'aiuto dei linfociti T helper che attivano queste cellule 3) linfociti T citotossici che uccidono le cellule infettate, dentro alle quali i microrganismi non sono accessibili agli anticorpi 4) i linfociti T helper CD4 che hanno

una funzione regolatrice della risposta immunitaria infiammatoria attraverso la produzione di interleuchine. I linfociti T quindi si dividono in citotossici o CD8, helper o CD4 e nelle cellule Natural killer.

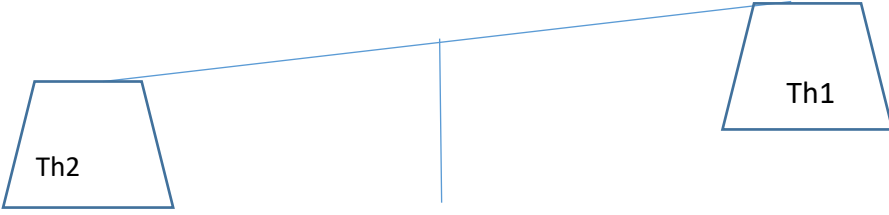
I linfociti T helper, prima dell'incontro con la noxa patogena, sono indifferenziati, Th0, e si differenziano in vario modo solo dopo l'incontro, producendo di conseguenza interleuchine diverse, in grado di suscitare diverse reazioni immunitarie.



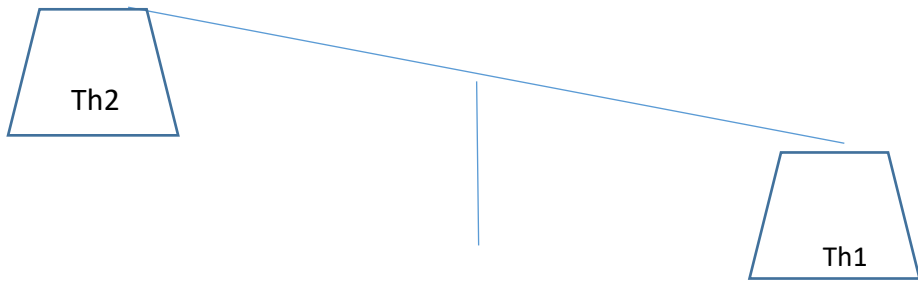
Per la maturità immunitaria i comparti Th1 e Th2 devono essere in una situazione di equilibrio.



Nell'infanzia, ma anche in caso di infezione cronica, c'è una dominanza di Th2 perché prevalgono le infezioni virali e batteriche e le vaccinazioni. Ciò può favorire le malattie a carattere allergico.



Se invece c'è dominanza Th1 prevalgono le malattie autoimmunitarie



## I PROCESSI DI OSSIDO-RIDUZIONE DELL'ORGANISMO E LO STRESS OSSIDATIVO

I processi catabolici che utilizzano carboidrati, lipidi e proteine a livello cellulare sono finalizzati alla produzione di energia sotto forma di ATP, adenosintrifosfato, composto chimico che fornisce energia a tutti i processi di lavoro biologico cellulare dell'organismo. Tutti i processi chimici catabolici comportano la produzione di "radicali liberi".

**Cosa sono i radicali liberi?** Sono frazioni molecolari molto reattive, normalmente con vita media brevissima, costituiti da uno o più atomi, che presentano un elettrone spaiato e di conseguenza molto instabile. Non appena questa frazione molecolare entra in contatto con altri radicali o molecole ha la tendenza a riacquistare la stabilità acquisendo un elettrone. Così facendo partecipano a reazioni chimiche di varia natura, poiché interagiscono con qualsiasi molecola vicina, come carboidrati, proteine, lipidi ed acidi nucleici, danneggiandola. Questo si traduce in danni a livello cellulare, tissutale e di organo. Il processo attraverso il quale il radicale instabile tende a recuperare la stabilità, avviene quindi a scapito di un'altra frazione molecolare che, perdendo un elettrone, diventa a sua volta instabile, propagando a catena il fenomeno.

La maggior parte di questi radicali liberi sono chiamati anche **Specie Reattive Ossidanti o ROS** perché provocano l'ossidazione legandosi alle molecole di  $O_2$  fino alla formazione della molecola più stabile, cioè  $H_2O$ . Assieme ai radicali liberi anche le molecole di Perossido d'idrogeno (acqua ossigenata  $H_2O_2$ ) ed l'anione Perossinitrito ( $ONOO^-$ ), che è anche un agente nitrosante, hanno la capacità di ossidare le strutture cellulari, danneggiandole. Normalmente le specie reattive sono contenute entro livelli minimi dalla **Rete Antiossidante, RAO**, costituita dall'insieme di sostanze di varia natura, come vitamina C, vitamina E, vitamina A, flavonoidi naturali, acido urico, albumina, ceruloplasmina, squalene, polifenoli, selenio, zinco, L- cisteina, acido lipoico, coenzima Q 10, assieme a molti enzimi come la SOD, Superossidodesmutasi, e la Glutazione riduttasi. Le specie reattive non sono solo quelle ossidanti, ma ne esistono altre legate all'azoto, allo zolfo, al cloro, ma nell'organismo umano, con l'aiuto della RAO, tutte le specie reattive tendono a trasformarsi in ROS e quindi essere commutate alla fine in  $H_2O$ .

Alcune delle sostanze che compongono la RAO sono introdotte nell'organismo con l'alimentazione, altre sono prodotte dall'organismo, alcune sono libere di circolare nel torrente sanguigno altre sono legate a strutture proteiche cellulari. I ROS e la RAO devono essere in costante equilibrio e definiamo questo equilibrio con il termine Redox (riduzione –ossidazione) in base ai processi chimici che si contrappongono.

Questo equilibrio si può misurare con alcuni esami. Il più usato è il **d ROMs test**, che misura grossomodo lo stress ossidativo, cioè l'eventuale eccesso di specie ossidanti. Nei soggetti sani il d-ROMs assume un valore compreso fra 250 e 300 UNITÀ CARR, che ne rappresenta anche l'intervallo di normalità. Valori superiori a 300 U CARR sono indicativi di una condizione di stress ossidativo.

Invece il **BAP test** misura grossomodo la RAO, o meglio misura la componente globale antiossidante nel sangue. Se misuriamo il **Glutazione**, tripeptide naturale correlato ad attività enzimatiche, sia antiossidanti che depuranti, si misura il suo equilibrio tra la parte ossidata (GSSG), cioè la parte che ha già assolto alla sua funzione di riduzione delle specie ossidanti e quella ridotta (GSH), che è importantissima perché deve essere sempre pronta ad agire in tal senso. Attraverso l'alimentazione introduciamo vitamine e flavonoidi che operano la riduzione del Glutazione ossidato. Da ciò si deduce che può essere utile una dieta con un alto apporto di antiossidanti (Vitamina C, Vitamina E e flavonoidi contenuti per esempio in cibi come mirtilli, succo di mirtilli e succo d'uva). L'unica importante raccomandazione, se si usano integratori, è di non esagerare con l'apporto di Vitamina E, per la quale sono previsti livelli massimi di assunzione giornaliera ben definiti, ed in generale bisogna non esagerare con le dosi, preferendo l'associazione di più

antiossidanti assieme a dosi ridotte, dato che ogni antiossidante, una volta assolta la propria funzione di donazione di elettroni, diventa instabile e quindi pro ossidante e come tale deve essere eliminato dall'organismo.

### **Cosa è dunque lo Stress ossidativo?**

È una condizione patologica causata dalla perdita dell'equilibrio tra i radicali liberi con attività ossidante (ROS) e la rete di sostanze chimiche antiossidanti (RAO). Questa condizione, cioè l'aumento delle specie chimiche ossidanti, è spesso collegata ad un evento patologico primario, come avviene per infiammazioni a carico di organi o apparati, ma anche la riduzione delle difese antiossidanti può essere secondaria a svariate condizioni patologiche. Quindi elevati valori di Stress ossidativo sono un fattore di rischio per la salute e lo specchio di un disordine chimico importante.

Fonti di ROS sono soprattutto le reazioni chimiche sostenute dalla respirazione mitocondriale e da vari enzimi come la lipossigenasi, la ciclossigenasi, il citocromo p450, l'eme ossigenasi, la xantina ossidasi, la NADH/NADPH ossidasi, la NO sintasi e tanti altri.

### **Endotelio vascolare, stress ossidativo e la sua evoluzione a stress nitrosativo**

L'endotelio vascolare rappresenta un vero e proprio organo con la funzione di modulare il tono vasale ed il flusso ematico ed ha un importante ruolo nella riperfusione vascolare dopo un evento ischemico. Il tono vasale è regolato da vari fattori, dei quali il principale è la produzione dell'Ossido Nitrico, NO, che ha un effetto di vasodilatazione (altri fattori con effetto di vasodilatazione sono le prostacicline, il fattore iperpolarizzante di membrana, mentre hanno effetto vasocostrittore l'endotelina I, l'angiotensina II, il Trombossano A2 e i ROS). Nel nostro organismo la sintesi dell'Ossido Nitrico è affidata ad un gruppo di enzimi appartenenti alla famiglia delle Ossido Nitrico sintasi, NOS, che utilizzano come substrato l'Arginina, aminoacido essenziale.



Vi sono vari tipi di Ossido Nitrico sintasi:

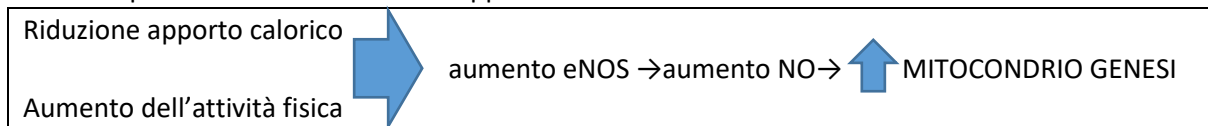
- eNOS = NO sintasi endoteliale. È calcio dipendente, cioè è attivata solo quando nella cellula aumenta la concentrazione degli ioni calcio. È presente nell'endotelio dove forma NO a comando, che diffonde nelle cellule muscolari vicine causandone il rilassamento e quindi vasodilatazione oltre ad inibire l'aggregazione piastrinica.
- nNOS = NO sintasi neuronale. È presente nel Sistema Nervoso Centrale dove l'Ossido Nitrico regola diverse funzioni sinaptiche.
- iNOS = NO sintasi inducibile. A differenza della eNOS, è sempre attiva e la sua capacità di azione dipende da quanto enzima la cellula produce. È presente per esempio nei Macrofagi: nelle cellule a riposo c'è poco enzima, ma quando la cellula viene attivata da stimoli vari (es. infiammazione, batteri, materiale necrotico per apoptosi cellulare) essa viene indotta a produrre molto enzima iNOS, con forte aumento dell'Ossido nitrico che uccide sia il batterio che il macrofago. L'Ossido Nitrico viene poi molto rapidamente degradato/inattivato e può essere considerato una specie di secondo messaggero ad azione locale.

Principali funzioni dell'ossido nitrico

- Neurotrasmettitore nel Sistema Nervoso Centrale, ma anche in plessi periferici, bronchiali (broncodilatatore) e gastrointestinali.



- Effetto vasodilatatore, sia sistemico, che coronarico e renale, per azione sulla muscolatura liscia non volontaria. È quindi uno dei principali fattori della regolazione della Pressione arteriosa.
- Effetto sulle difese immunitarie perché, prodotto dalle cellule deputate, attacca la membrana plasmatica batterica con il suo effetto ossidante, uccidendo i germi.
- **In condizioni fisiologiche** l'NO esercita un'azione di inibizione sul fattore di trascrizione NF-kB. L'aumento dei ROS intracellulari determina l'attivazione del fattore di trascrizione NF-kB con aumento della trascrizione dei geni pro infiammatori e quindi l'aumento delle citochine infiammatorie (IL-1, IL-6, IL-8, TNF, IFN).
- Effetto anti piastrinico, anti trombotico: diminuisce l'aggregabilità e l'adesività piastrinica.
- Stimola la mitocondrio-genesi. La sintesi dell'Ossido nitrico è contrastata dal TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor), prodotto nei processi d'infiammazione, che sono nettamente aumentati nelle persone obese. Negli obesi c'è quindi una riduzione dell'attività mitocondriale e di conseguenza, parte del cibo introdotto non viene metabolizzato dai mitocondri e si deposita nel grasso (adipociti) stimolando ulteriore infiammazione che produce altro TNF $\alpha$ . La conseguente carenza di ATP viene percepita dal cervello come bisogno di cibo e ciò alimenta un circolo vizioso. Per interromperlo è necessario ridurre l'apporto calorico ed aumentare l'attività fisica:



Sia i processi reattivi infiammatori che i processi metabolici sono in grado di generare grandi quantità di Ossido Nitrico, NO. Come? Le Citochine e l'Interferone prodotti nell'infiammazione stimolano l'enzima iNOS, Ossido Nitrico Sintasi inducibile, enzima più rapido, più efficace e più di duraturo dell'eNOS, Ossido Nitrico Sintasi endoteliale.

**Cosa può aumentare la produzione di Ossido Nitrico all'interno della cellula?** Sono tanti gli stimoli che possono aumentare l'Ossido Nitrico all'interno della cellula: tutti gli stimoli in grado di aumentare direttamente o indirettamente il flusso di ioni calcio all'interno della membrana cellulare. Questi stimoli quindi possono derivare da virus, batteri, funghi, tossine, alimenti, pesticidi, metalli pesanti, solventi, veleni industriali, campi elettromagnetici e stress. L'endotelio vascolare è certamente la struttura più sensibile sia all'Ossido Nitrico che allo stress ossidativo, soprattutto l'endotelio della barriera ematoencefalica.

### **Evoluzione dello Stress ossidativo in Stress nitrosativo e danno ischemico.**

L'Ossido Nitrico è dunque una molecola con azione di vasodilatazione e quindi con la possibilità di migliorare la perfusione di ossigeno ai tessuti, ma, **quando è in eccesso**, interagisce con i ROS e determina vari fenomeni:

- Sostituzione di Ossido Nitrico al posto dell'ossigeno nei citocromi della catena respiratoria, che causa riduzione di ATP.
- L'Ossido Nitrico tende a legarsi con l'anione Superossido  $O_2^-$  formando l'anione Perossinitrito ( $ONOO^-$ ), potente ossidante, che danneggia tutte le strutture cellulari. Inoltre il Perossinitrito in condizioni di Ph acido, genera la produzione di Radicale ossidrilico (OH) che è il più potente ossidante che esista nel nostro organismo. **L'effetto finale è che l'amplificazione locale dello Stress ossidativo-nitrosativo genera vasocostrizione.** Quindi l'Ossido nitrico prodotto su stimolo della pressione arteriosa sull'endotelio o ad opera di altri meccanismi come l'infiammazione, con la funzione di vasodilatazione, ottiene l'effetto contrario con vasocostrizione e riduzione dell'energia necessaria a fronteggiare lo stress ossidativo = effetto paradossale dell'Ossido Nitrico.

- A questo effetto si aggiungono: la super produzione di Ossido Nitrico nei pressi di una Placca Aterosclerotica, a causa dell'alterazione dell'endotelio e, poiché non è possibile l'azione sulla muscolatura liscia, si ha la diffusione dell'Ossido Nitrico ai tessuti circostanti. In presenza di  $O_2^-$  e di Ph basso, tipici della reazione infiammatoria nelle vicinanze della placca, si creano le condizioni per la formazione di Perossinitrito e Radicale ossidrilico.
- A causa del forte Stress Ossidativo locale si attivano le Proteasi, come la Trombina (converte il fibrinogeno in fibrina), contro le anti proteasi, con una forte spinta verso la trombosi.

**La conclusione è che lo Stress ossidativo, e di conseguenza tutte le cause che possono determinarlo, è la base fondamentale dei danni da Ischemia e Riperfusione vascolare.**

### **Danni ai lipidi cellulari da stress ossidativo.**

In particolare i danni cellulari a carico delle strutture, conseguenti all'azione dei ROS, consistono nella **perossidazione dei lipidi** che compongono la struttura della membrana cellulare, cioè i fosfolipidi ed il colesterolo che compongono la membrana possono essere degradati attraverso il meccanismo della perossidazione ossidativa. Si formano così LDL ossidate e composti intermedi, normalmente non presenti in situazioni fisiologiche, la cui misurazione può dare un'idea dell'entità del danno causato dallo stress ossidativo alle strutture delle membrane cellulari. Tra questi il dosaggio della **Malondialdeide (MDA)** è tra i più utilizzati come marker di danno da stress ossidativo.

Il danno alle strutture proteiche cellulari è invece espresso maggiormente dal dosaggio della **Nitrotirosina, 3NT**, un aminoacido che si forma dalla reazione tra i ROS e l'aminoacido Tirosina. Infine il danno al DNA cellulare è espresso maggiormente dal dosaggio della **8 OH 2 dg = 8 OH 2 desossi guanosina**. È un test usato in molte circostanze, per esempio in geriatria riguardo la demenza senile o dai preparatori atletici per quantificare lo stress ossidativo e personalizzare i carichi di lavoro negli atleti. Si tenga conto che un grave danno agli acidi nucleici, non riparabile dalla cellula, innesca il processo di autodistruzione cellulare programmata (apoptosi) con possibili danni tissutali. La valutazione contemporanea di questi dosaggi è utile per una valutazione globale della presenza e dell'entità dello stress ossidativo. Anche l'aumento dell'**Omocisteina** e della **Ferritina** possono essere correlati a questa condizione.

### **Stress Ossidativo e Sistema nervoso centrale**

La barriera ematoencefalica è costituita da unità dove c'è una stretta connessione tra le cellule endoteliali tra di loro, con i neuroni e con gli astrociti, è quindi più corretto pensare ad una **Unità neuro vascolare** come componente principale del SNC. La lesione di uno di questi elementi si ripercuote su tutto il complesso. Il danno ossidativo ai mitocondri e agli eritrociti, innescato da varie cause, è alla base delle malattie degenerative del Sistema Nervoso Centrale, soprattutto negli anziani.

Nel Sistema Nervoso Centrale a causa dell'alta attività metabolica necessaria per mantenere molto strette le giunzioni tra le cellule endoteliali, anche solo per controbilanciare lo stimolo sistolico sulla parete, è necessario un elevato consumo di ATP con un forte aumento dei ROS. Alla base quindi del danno all'unità costituente la barriera ematoencefalica c'è lo Stress ossidativo, che compromette l'attività dei mitocondri nella produzione di energia. I mitocondri, con la loro attività metabolica, producono anche specie

ossidanti  $O_2^-$  (l'anione Superossido) e  $H_2O_2$  (Perossido d'idrogeno o acqua ossigenata) e queste specie reattive, se non neutralizzate dalla RAO possono aggredire e danneggiare il DNA mitocondriale e nucleare, non di rado infatti nello stress ossidativo cerebrale, come si osserva nella malattia di Alzheimer, aumenta la produzione di 8-OHdg (idrossi desossi guanosina) prodotto di ossidazione del DNA. Il DNA può essere riparato, ma serve molto ATP. Se è possibile ottenerlo dalla glicolisi citoplasmatica bene, ma se invece aumenta l'attività della catena respiratoria mitocondriale, aumentano anche i ROS e ciò porta a dei valori così alti dei radicali liberi da innescare l'apoptosi e la morte cellulare. Come visto in precedenza un altro meccanismo importante è il blocco della catena respiratoria da parte dell'Ossido nitrico, se in eccesso, come avviene in casi di Neuroinfiammazione, riducendo ulteriormente la produzione mitocondriale di ATP, della quale il SNC ha un altissimo bisogno. Nella barriera ematoencefalica lo Stress ossidativo, collegato alla neuroinfiammazione, invece di causare vasodilatazione per azione dell'ossido nitrico (NO) sulla parete, provoca vasocostrizione per la forte attivazione di iNOS (enzima Ossido Nitrico Sintasi inducibile) con formazione finale di Perossinitrito ed infine vasocostrizione (effetto paradossale dell'Ossido Nitrico). Il risultato finale è una diminuzione della perfusione sanguigna, fenomeno al quale partecipano anche le alterazioni eritrocitarie in presenza di Stress ossidativo.

### **Stress ossidativo ed Eritrociti**

Il cervello ha bisogno di molto ossigeno, quindi la possibilità che l'ossigeno,  $O_2$  inserito nell'emoglobina, raggiunga le cellule cerebrali è un elemento fondamentale. Ogni eritrocita deve essere protetto dall'ossidazione dell'emoglobina che, se si ossida, si trasforma in Metaemoglobina dove il ferro 2+ (ione ferroso) diventa ferro 3+ (ione ferrico), che non trasporta più ossigeno. Per questo motivo l'eritrocita è fornito di un sistema antiossidante: **la metaemoglobina riduttasi NADP dipendente**, che consuma ATP, che può essere prodotta solo con la glicolisi, attraverso il ciclo dei Pentoso fosfati, dato che gli eritrociti non hanno mitocondri. Per lo scambio di ossigeno è poi anche importante la funzionalità della membrana eritrocitaria che necessita quindi di antiossidanti riducenti come il Glutatione, ATP dipendenti, in grado di riparare la membrana dalla Perossidazione dei lipidi. Il globulo rosso ha un corredo antiossidante: Glutatione, L-cisteina, Glicina, Glutatione perossidasi, Selenio, Selenilcisteina, Vitamine B1, B2, B3. Per la sintesi del Glutatione ridotto, GSH, sono necessarie L-Cisteina, Glicina e Acido Glutammico poiché è un tripeptide (glutamil cisteinil glicina). Per l'enzima Glutatione perossidasi, antiossidante da rinnovare, è necessario il Selenio che si lega alla Cisteina e forma la Selenilcisteina. La membrana eritrocitaria è formata da fosfolipidi e colesterolo e, se danneggiata, perde le sue caratteristiche di deformabilità ed elasticità necessarie per passare nel microcircolo, contribuendo ai danni tissutali ed endoteliali prodotti dallo stress ossidativo.

### **Stress ossidativo, senescenza, danni e riparazione del DNA**

Le normali attività metaboliche cellulari e molti fattori ambientali, come le radiazioni ionizzanti, possono causare danni al DNA. Si stima che ci possano essere circa 500000 singole lesioni molecolari per cellula al giorno.

Quindi l'attività di riparazione del DNA deve essere continua, per correggere tutti i danni che altrimenti avrebbero delle conseguenze gravi sulla espressione dei geni codificanti. La proteina **p53** è un fattore di trascrizione che rileva la presenza di DNA danneggiato e ne blocca la replicazione, affinché si verifichino prima i processi di riparazione in modo che il DNA alterato non si replichi e non sia trasmesso alle cellule figlie. Molto importante per il metabolismo cellulare è non solo la riparazione del DNA nucleare, ma anche di quello mitocondriale, che è molto più facilmente danneggiabile, perché non è protetto da una membrana come quello nucleare. Ogni cellula è quindi dotata di meccanismi di riparazione che però si indeboliscono con l'invecchiamento. Quando la cellula non è più in grado di contrastare la degenerazione del DNA può andare incontro ad uno dei tre possibili fenomeni:

- Uno stato di dormienza irreversibile, detto senescenza.
- Il suicidio della cellula chiamato apoptosi o morte cellulare programmata.
- La carcinogenesi, ossia la formazione del cancro

L'apoptosi è quindi un meccanismo molto importante di prevenzione del cancro. I geni coinvolti della riparazione degli errori del DNA e nella apoptosi cellulare, vengono definiti **geni oncosoppressori**.

Molto si è studiato su **quali geni determinino una vita più lunga** e le conclusioni sono queste:

- Sono i geni che agiscono positivamente, direttamente o indirettamente, sulla prevenzione o sulla riparazione dei danni al DNA ed agiscono di solito aumentando la velocità di riparazione del DNA, capacità che purtroppo peggiora con la senescenza. Altri geni agiscono con l'aumento della velocità di produzione degli antiossidanti e con il calo della velocità di produzione degli ossidanti, anche queste condizioni peggiorano con la senescenza.
- La riduzione delle difese, su base genetica, riguardo l'insorgere dello stress ossidativo si ripercuote quindi sulla longevità, ma non è da minimizzare l'altro fattore importante, cioè la nostra relazione con l'ambiente. Alimentazione, stile di vita, salubrità ambientale condizionano fortemente la nostra capacità di fronteggiare lo stress ossidativo e sono in grado, in una certa misura, di ribaltare anche una condizione geneticamente favorevole.

# Mitocondriopatie

I mitocondri, secondo le teorie più accreditate dal punto di vista evolutivo, risalgono a batteri intracellulari con metabolismo aerobio, adattatisi ad una vita intracellulare in simbiosi con la cellula, che primitivamente aveva solo un metabolismo anaerobio, per la quale producono energia. Hanno dimensioni comprese tra 0,5 e 3  $\mu\text{m}$ . Come i batteri si riproducono per duplicazione. Hanno una membrana esterna liscia ed una interna molto frastagliata che consente una grande superficie (diversi metri quadri) dove si trovano la maggior parte degli enzimi. Hanno un proprio DNA libero, a forma circolare ed in diverse copie, non protetto da una membrana, come è invece il DNA del nucleo cellulare. Le copie danneggiate del DNA vengono sostituite da altre copie ma con una ridotta capacità di riparazione. I mitocondri sono la centrale energetica della cellula perché il loro compito principale è estrarre energie dai substrati organici producendo molecole di ATP. Nelle cellule muscolari, che sono quelle che necessitano di maggiore quantità di energia, sono migliaia per ogni cellula.

La completa demolizione della molecola di glucosio nella cellula avviene attraverso tre strade:

- la glicolisi anaerobica che avviene nel citoplasma della cellula, con reazioni chimiche poco vantaggiose, che producono quindi poco ATP, ma lo producono velocemente al bisogno.
- Il ciclo di Krebs che si svolge nella matrice mitocondriale.
- La fosforilazione ossidativa che avviene nelle creste della membrana interna del mitocondrio con una serie di reazioni enzimatiche di ossido-riduzione che portano ad una abbondante produzione di ATP.

## Approfondimento

*Nella Glicolisi anaerobica una molecola di glucosio, attraverso 10 passaggi chimici, viene scissa in 2 molecole di Acido piruvico, con la produzione finale di 2 molecole di ATP. Questo processo ha il vantaggio di avvenire molto rapidamente ed è quindi utilizzato in prima istanza dalla cellula in tutte le situazioni che richiedano una risposta energetica immediata.*

*Le molecole di acido Piruvico possono poi seguire varie vie:*

- *possono essere riconvertite in glucosio, attraverso le reazioni chimiche della neoglucogenesi, quando la cellula e l'organismo lo richiedono;*
- *passare nel mitocondrio sotto forma di Acetil coenzima A grazie all'azione dell'enzima piruvato deidrogenasi. Nel Mitocondrio entra nel Ciclo di Krebs;*
- *Può essere convertito in Acido lattico per attuare una sorta di accumulo quando non è possibile, per mancanza di ossigeno o di substrati, passare alle altre fasi. L'Acido lattico può quindi essere nuovamente riconvertito in Acido piruvico.*

*Nel mitocondrio l'Acetil coenzima A proviene anche dalla  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi, processo di degradazione degli acidi grassi, che penetrano nel mitocondrio grazie alla Carnitina, un derivato amminoacidico prodotto dall'organismo, che funge da trasportatore degli acidi grassi a catena lunga. Ciò avviene grazie a 2 enzimi:*

*la CAT 1 (acil carnitina transferasi 1) che permette il passaggio attraverso la membrana mitocondriale esterna;*

*la CAT 2 (acil carnitina transferasi 2) che permette il passaggio attraverso la membrana interna dove l'Acetil coenzima A viene liberato dalla Carnitina ed entra nel ciclo di Krebs.*

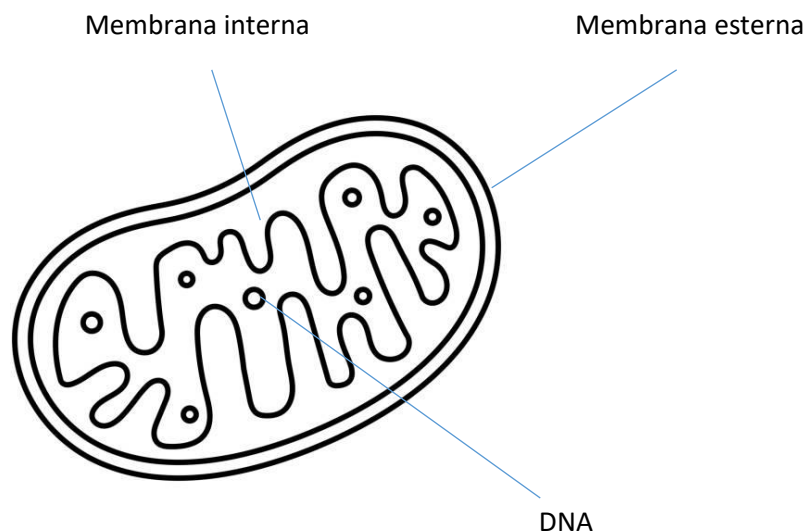
Il ciclo di Krebs parte dall'Acido piruvico convertito in Acetil coenzima A, ma questa reazione necessita di cofattori: Vitamina B1 (Tiamina), B2 (Riboflavina), B3 (Niacina), Acido alfa lipoico e Coenzima A. Quindi tutto quello che interferisce con l'assorbimento di questi cofattori Interferisce con la produzione di energia. La funzione principale del mitocondrio è dunque l'ossidazione dei metaboliti con il ciclo di Krebs e la  $\beta$ -ossidazione e l'ottenimento di molto ATP attraverso la Fosforilazione ossidativa, che dipende dalla catena di trasporto degli Elettroni, che è situata sulle creste della membrana interna del mitocondrio.

In tutte le cellule c'è una specie di sensore della capacità energetica della cellula: il sistema delle proteine chinasi AMP dipendenti (AMPK). Queste proteine si possono legare a molecole come AMP (adenosin mono fosfato) o ATP (adenosin tri fosfato) con effetto rispettivamente di attivazione o inibizione della produzione energetica, che dipende quindi dal rapporto AMP/ATP presente nella cellula.

Le AMPK si attivano soprattutto quando c'è una forte richiesta energetica come nel caso di dieta con restrizione calorica, digiuno prolungato, alimentazione con pochi zuccheri ed aumento dell'attività fisica. L'effetto dell'attivazione delle AMPK determina un aumento della moltiplicazione dei mitocondri con autofagia dei mitocondri troppo danneggiati, una inibizione della sintesi proteica ed un aumento della captazione di glucosio da parte delle cellule.

Il DNA del mitocondrio è di origine solo materna (solo l'ovocita ha mitocondri, gli spermatozoi ne sono privi) e garantisce una autonomia per quanto riguarda molte proteine. Le membrane del mitocondrio sono ricche di enzimi, fondamentali per i processi chimici dai quali dipende la produzione di energia.

La produzione di energia genera però una rilevante formazione di radicali liberi, che, se non adeguatamente bilanciati da molecole antiossidanti, provocano uno stress ossidativo che danneggia le strutture del mitocondrio.



### Funzioni del Mitocondrio

- Produzione di energia. Questa è la **funzione principale dei mitocondri** attraverso il Ciclo di Krebs, la  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi e la Fosforilazione ossidativa.
- Funzione di deposito di ioni  $\text{Ca}^{2+}$  nella matrice mitocondriale.
- Partecipa alla sintesi del gruppo EME
- Partecipa alla gluconeogenesi con i mitocondri della cellula epatica.
- Partecipa alla sintesi degli ormoni steroidei.
- Stimola l'apoptosi cellulare attraverso messaggi molecolari quando riceve le informazioni necessarie.

- Produce calore. Il mitocondrio sfrutta la proteina Termogenina, che non sintetizza ATP, ma semplicemente aumenta la temperatura corporea (funzione presente soprattutto nel grasso bruno dei neonati).
- Sintetizza autonomamente la maggior parte delle proprie proteine. Grazie al proprio DNA.
- Partecipa all'equilibrio redox.

### Cause di Mitocondriopatie

- Esistono delle rare malattie genetiche molto gravi, per lo più neurologiche, correlate spesso a malfunzionamento di particolari enzimi.
- Mutazioni del DNA mitocondriale correlate all'età, da senescenza della cellula.
- Stress Ossidativo-nitrosativo provocato da eccesso di ROS ed Acido Nitrico
- Danni provocati a causa dell'alterazione dell'omeostasi del calcio.
- Danni a carico del potenziale di membrana del mitocondrio.
- I Mitocondri possono essere danneggiati da sostanze tossiche ambientali (pesticidi, insetticidi, metalli pesanti, detersivi, cosmetici), antibiotici e altri farmaci, ma anche dallo stress.

Le malattie neurologiche, metaboliche, cardiache e oncologiche sono sempre più associate a un disturbo funzionale dei mitocondri.

Tutte le reazioni enzimatiche necessitano di cofattori che purtroppo possono subire una interferenza da parte dell'ambiente:

- **La piruvato deidrogenasi** è un enzima mitocondriale, appartenente alla classe delle ossido reduttasi, fa parte di un complesso enzimatico che **realizza la conversione del Piruvato in acetil-CoA e collega la glicolisi anaerobica, che avviene nel citoplasma, al ciclo di Krebs che avviene nel mitocondrio**. Necessita di Vitamina B1 (Tiamina), B2 (Riboflavina), B3 (Niacina), Acido alfa lipoico, Coenzima A
- **Ciclo di Krebs**, necessita di Vitamina B1, B2, B3, B6, Acido alfa lipoico, Magnesio, Calcio
- **Fosforilazione ossidativa**, necessita di Coenzima Q10, vitamina B2, B3, ferro, magnesio, zolfo, rame, acidi grassi polinsaturi omega-3
- **$\beta$ -ossidazione degli acidi grassi**, necessita di Biotina, Magnesio, Vitamina B2, B3, B12
- **Ciclo della Carnitina**, necessita di Vitamina B3, B6, Vitamina C, Ferro, Metionina e Lisina
- **Gluconeogenesi**, necessita di Manganese, Biotina, Magnesio, Vitamina B12, Zinco, Ferro.
- **Sintesi EME**, necessita di Ferro, Vitamina B6, B2, Zinco, Glicina, acido Succinico del ciclo di Krebs
- **Sintesi ormoni steroidei**, necessita di Vitamina B3
- **Catabolismo ammoniacale (NH<sub>3</sub>)** necessita di manganese
- **Protezione antiossidante:**
  - SOD 1, SOD 3, necessitano di Zinco e Rame
  - SOD2, necessita di Manganese
  - Catalasi, necessita di Ferro
  - Glutazione perossidasi, necessita di Cisteina, Acido Glutammico, Glicina e Magnesio
  - Glutazione reduttasi, necessita di Vitamina B2, B3, Vitamina E e Vitamina C.

Ci sono poi sostanze che possono agire direttamente danneggiando le strutture mitocondriali. Esempi: il Cianuro e il Monossido di Carbonio (CO) inattivano la Citocromo C ossidasi bloccando la catena respiratoria mitocondriale e provocando in breve tempo la morte; il valproato di sodio inibisce la fosforilazione ossidativa e l'ossidazione degli acidi grassi.

### **Come si misura l'attività dei mitocondri?**

Il test più adatto è **la misurazione dell'ATP intracellulare**. Poiché i granulociti del sangue contengono molti mitocondri e sono facilmente disponibili, con il prelievo del sangue eparinato, vengono prelevati, purificati, lisati e l'ATP viene misurata quantitativamente mediante una specifica reazione di chemiluminescenza (CLIA). È difficile reperire i laboratori che eseguano tale esame.



# Biotrasformazione

Con il termine di **Biotrasformazione** si intendono tutti quei processi metabolici necessari per rendere maggiormente idrosolubili varie sostanze chimiche al fine di facilitarne l'eliminazione. Ciò è specialmente importante per il metabolismo di farmaci e xenobiotici. Questo processo di trasformazione si svolge essenzialmente nel fegato, marginalmente anche in altri organi come polmoni, reni e intestino.

**La Biotrasformazione avviene in tre fasi.**

La fase I è detta anche funzionalizzazione, perché in questa fase vengono introdotti o esposti gruppi idrofili nello xenobiotico in modo da renderlo più idrofilo. È una fase di preparazione per la fase II dove gli xenobiotici vengono coniugati con varie sostanze ed in questo modo preparati alla eliminazione che avviene nella Fase III.

**Ogni fase ha quindi i suoi enzimi catalizzatori senza i quali le reazioni non possono avvenire.**

**Tra gli enzimi di fase I il più importante è il Citocromo P450.** Questa è una famiglia di isoenzimi epatici che catalizzano l'ossidazione di molti composti di origine endogena oltre a farmaci. Alcune isoforme del Citocromo P450 (CYP) svolgono un ruolo centrale nel metabolismo dei farmaci. Il polimorfismo dei geni che codificano questi enzimi può variare notevolmente l'attività enzimatica dando origine a fenotipi con capacità metabolica differente, avremo quindi, all'interno della medesima popolazione, individui con metabolizzazione dei farmaci che potrà essere lenta, oppure rapida, oppure ultra rapida. Anche la caffeina è metabolizzata dal citocromo **P450**: un metabolizzatore rapido è geneticamente predisposto a produrre un quantitativo maggiore di citocromo P450 e quindi gli effetti di un caffè dovrebbero durare per un tempo più breve rispetto alla media. Un metabolizzatore lento è predisposto geneticamente a produrre un quantitativo minore di citocromo P450 e quindi gli effetti di un caffè dovrebbero durare per un tempo più lungo rispetto alla media.

**Tutti gli enzimi di Fase II sono trasferasi, perché coniugano la sostanza da eliminare con altre sostanze,** ciò ne aumenta il peso molecolare e l'idrosolubilità facilitando l'eliminazione attraverso gli emuntori organici.

Le reazioni della fase II sono la **Glucuronazione** (cioè la coniugazione con l'acido glucuronico), la **Solfatazione** (coniugazione con un gruppo solfato), la **Metilazione** (es. COMT, Catecol O-metiltrasferasi), la **Acetilazione** (la coniugazione con acido acetico), la **Coniugazione con il Glutatione** (formazione di acidi mercapturici), la **Coniugazione con vari aminoacidi** (glicina, taurina, acido glutammico).

Le principali reazioni della fase II del metabolismo degli xenobiotici sono le reazioni di coniugazione o di sintesi in cui intervengono:

- le glutazione-S-trasferasi (**GST**).
- le N-acetiltrasferasi (**NAT**). Utilizza come cofattore dell'acetilazione l'Acetil CoA ottenuto dalla glicolisi. Nell'uomo sono presenti 2 enzimi citosolici: NAT1 e NAT2. NAT1 è presente in molti tessuti, NAT2 è presente prevalentemente nel fegato e nelle cellule epiteliali dell'intestino. Metabolizzano molte ammine aromatiche ed eterocicliche potenzialmente cancerogene (presenti nelle carni bruciate).
- le UDP glucuronosiltrasferasi (**UGT**). I glucuronidi formati nel fegato possono essere escreti con la bile oppure passare nel sangue ed essere escreti dai reni. Le reazioni interessano soprattutto gli acidi carbossilici, alcoli e fenoli, ammine e composti solfidrilici.
- le sulfotrasferasi (**SULT**). Diversi xenobiotici possono essere solfatati: alcoli, fenoli, alcune ammine aromatiche. La reazione catalizzata dalle SULT è un importante passaggio del metabolismo di ormoni, catecolammine, altri neurotrasmettitori e anche di farmaci.

**Gli xenobiotici metilati** sono fenoli, catecoli, amine aromatiche o alifatiche. Il cofattore della metilazione è l'S-adenosilmetionina (SAME) che si trasforma in S-adenosilomocisteina, con la donazione del gruppo metile. Vedi la figura al capitolo "I processi di metilazione".

Col termine di “**Genoma**” si intende il corredo genetico completo di una cellula che è costituito da porzioni codificanti dette “geni” ed una grande massa di DNA (98%) non codificante, della quale ancora non si conosce bene l'importanza e la reale funzione, tanto che inizialmente è stata definita “DNA spazzatura”, ma che oggi sembra sempre più certo sia in causa nella regolazione della trascrizione del DNA codificante (\*). In ogni nostra cellula sono contenuti all'incirca 30.000 geni, ciascuno dei quali contiene il codice di una proteina specifica. Questo patrimonio di 30.000 geni è identico in tutte le nostre cellule ed estremamente simile a quello di altre specie viventi. È necessario quindi che ci sia una fine regolazione su quali geni devono essere espressi in uno specifico momento e in una specifica cellula, affinché avvenga la differenziazione tra i diversi organi e tessuti. Si pensa che questa direzione sui geni da aprire e chiudere sia espressa attraverso una proteina: **La MECP2, Metil CpG binding protein 2**. È capace di legare selettivamente il DNA metilato e di reprimere la trascrizione. Come avvenga questa direzione sui geni, chi sia e dove sia il Direttore d'orchestra, che agisce tramite questa proteina ed altri fattori, è in fase di studio. Da studi molto recenti sembra comunque che questa proteina sia in causa nelle **patologie stress-correlate**. **Una riduzione nel sangue della MECP2** sembrerebbe favorire il rischio di sviluppare quadri patologici, in persone, soprattutto donne, che, durante l'infanzia o l'adolescenza, abbiano vissuto esperienze particolarmente avverse.

Il DNA cellulare si trova relegato nel nucleo assieme alla Cromatina che ha il compito di Impaccarlo.

Gli **istoni** sono proteine basiche che costituiscono la componente strutturale della cromatina. Sono proteine cariche positivamente che interagiscono con il DNA, che è carico negativamente. Gli istoni devono organizzare il DNA, compattandolo in maniera ordinata, per essere conservato nello spazio ristretto costituito dal nucleo cellulare. Quando una cellula deve esprimere l'informazione genetica codificata nel suo DNA, la relativa regione viene svolta, i geni localizzati all'interno di essa vengono espressi, e poi la regione viene nuovamente condensata nella sua conformazione quiescente. Le estremità degli istoni possono subire numerose modifiche promosse da specifici enzimi che promuovono acetilazione, metilazione, ubiquitinazione, fosforilazione. Tali reazioni chimiche influiscono sulla struttura della cromatina facilitando la trascrizione o l'inibizione di un gene. Gli attivatori della trascrizione avrebbero una attività acetilasica sull'istone, mentre i repressori della trascrizione sembrano possedere una attività deacetilasica sull'istone. Gli istoni sarebbero quindi in grado di regolare l'espressione genica con **meccanismi epigenetici**.

**Con il termine di “Genetica” si intende la branca della biologia che studia il DNA, i geni, l'ereditarietà e la variabilità genetica negli organismi viventi.**

**Con il termine di “Epigenetica” si indicano le modificazioni chimiche correlate al DNA ed alla cromatina che influenzano il Genoma e soprattutto la sua espressione genica, senza alterare il DNA stesso.**

- Se paragoniamo il funzionamento dell'organismo umano con quello di un computer possiamo dire che l'**epigenoma** è il software di programmazione del genoma, cioè quell'insieme di informazioni provenienti dall'interno dell'organismo e dall'ambiente esterno che interagiscono con i geni presenti nel DNA, che rappresenta l'hardware.
- L'epigenoma decide, in una determinata cellula, che gene deve essere aperto alla trascrizione oppure chiuso, determinando un segnale di espressione genica.
- L'epigenoma può venire ereditato da generazioni di cellule, salvando lo stesso programma genico indotto dall'ambiente e quindi caratteristico di un individuo, ma può anche cambiare, è cioè dotato di plasticità.

Diverse regioni del DNA codificante vengono quindi metilate e riprogrammate, ricevendo un'impronta sia dai genitori, che da una programmazione fetale e neonatale indotta dall'ambiente (alimentazione della madre durante la gestazione, fumo, inquinamento, farmaci, malattie ecc. ecc.). Sono considerati importanti soprattutto i primi 1000 giorni dal concepimento, che attuerebbero una programmazione del fenotipo, poi molto difficile da modificare. Da questa programmazione può derivare la predisposizione a molte malattie. L'ambiente e l'alimentazione continuano ad influenzare epigeneticamente il Genoma dell'individuo per tutta la vita.

Le varie branche della scienza che studiano la relazione tra genoma ed ambiente sono la **Genomica**, che studia il Genoma, la **Proteomica** che studia le proteine, la **Metabolomica** che studia il metabolismo cellulare attraverso i metaboliti delle reazioni chimiche, la **Nutrigenomica**, che studia la correlazione tra espressione genetica e cibo e la **Lipidomica** che studia le relazioni tra gli acidi grassi che compongono le membrane cellulari, il cui equilibrio è fondamentale per proteggere la cellula e favorire i corretti meccanismi di scambio attivo e passivo attraverso le membrane.

(\*) Tra le nuove teorie che assegnerebbero a questa porzione di DNA un ruolo fondamentale nel funzionamento degli organismi viventi, molto originale è quella che assegnerebbe al DNA la funzione di una stazione ricetrasmittente di biofotoni, in grado di ricevere e trasmettere segnali per i processi cellulari. La sua doppia struttura ad elica lo renderebbe simile ad un'antenna per tutte le direzioni. I biofotoni (emissioni spontanee di quanti di luce di quasi tutti i sistemi biologici) rappresenterebbero un vero e proprio linguaggio per la trasmissione in codice di informazioni dentro la cellula e fra loro tra le cellule. Nel 1976 il biofisico Fritz Albert Popp ha dimostrato che il DNA emette spontaneamente **biofotoni** durante le operazioni di apertura e chiusura delle sezioni del DNA, che ne permettono l'espressione genica. Molti scienziati considerano però l'intensità ultra debole dei biofotoni dei sistemi biologici un punto di debolezza di questa teoria. Fino ad oggi abbiamo considerato i processi chimici e la differenza di potenziale di membrana le vie di comunicazione tra le cellule, ma se questa teoria fosse giusta, in parte o totalmente, avremmo una via di comunicazione che viaggia alla velocità della luce!

Un'altra teoria, molto recente, portata avanti dai ricercatori dell'Università di Padova e Monaco, suppone che la trascrizione del DNA sia regolata da un terzo filamento di DNA che, aggiungendosi alla doppia elica, forma un ibrido a tripla elica che ne regola momentaneamente la trascrizione.

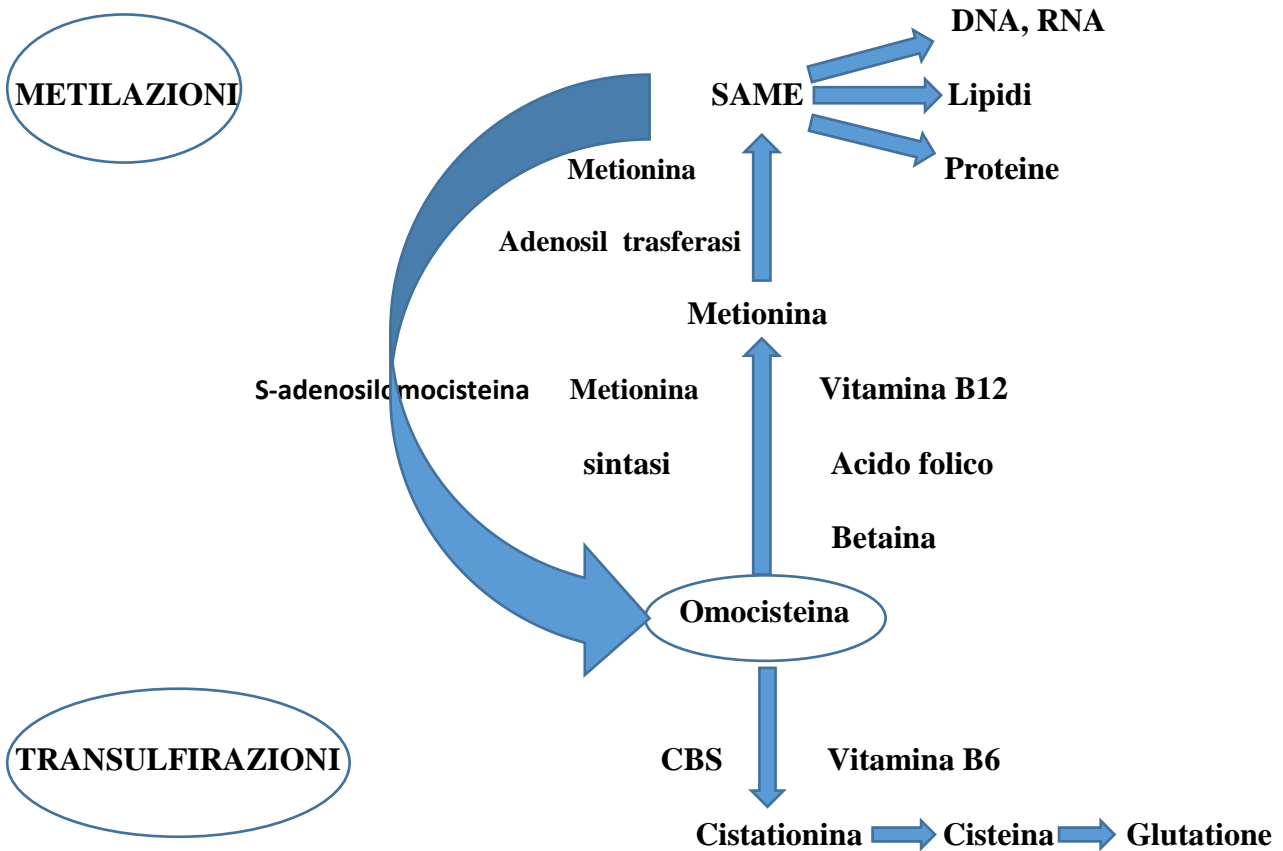
## I processi di metilazione

I processi di metilazione sono tra i più importanti processi chimici del nostro organismo. **Consistono nel passaggio a staffetta del gruppo metile  $\text{CH}_3$  tra varie sostanze chimiche**, in reazioni complesse del nostro organismo. Dal corretto funzionamento dei meccanismi di metilazione dipendono:

1. la duplicazione, la trascrizione e la riparazione del DNA,
2. la regolazione della crescita cellulare e dell'espressione genica,
3. la sintesi di molte sostanze come neurotrasmettitori (serotonina, melatonina, adrenalina, noradrenalina, acetilcolina), lipidi ed ormoni,
4. l'eliminazione di sostanze tossiche sia esogene che endogene, come metaboliti tossici, metalli pesanti, pesticidi ecc. ecc.
5. la formazione della guaina mielinica dei nervi e quindi il corretto funzionamento della conduzione dello stimolo nervoso.
6. Il mantenimento dell'integrità e fluidità delle membrane cellulari attraverso la metilazione dei fosfolipidi che le compongono.

Il DNA di una cellula non produce sempre tutte le proteine che è in grado di codificare, ma viene modulato, cioè chiuso o aperto, da sostanze che metilano o acetilano la sequenza appropriata in quel momento. **Quando una cellula non vuole esprimere una certa sequenza del DNA attiva la sua metilazione, attua cioè una repressione della trascrizione di quella porzione di DNA.** La metilazione avviene quindi in zone regolatorie del gene e impedisce il legame dei fattori di trascrizione, che legano l'RNA Messaggero (cosa è un fattore di trascrizione? vedi il capitolo sull'infiammazione cronica di basso grado). La metilazione del DNA viene anche definita come una modificazione epigenetica del DNA, cioè una mutazione del fenotipo, che dipende non dalla espressione genetica, come può avvenire per una mutazione del DNA, ma come conseguenza di un intervento esterno indotto dall'ambiente, che poi si potrebbe tradurre in una modifica permanente delle cellule figlie. Ovviamente un silenziamento genico non programmato è causa di gravi alterazioni e per tale motivo processi di ipermetilazione o ipometilazione del DNA sono associati ad un gran numero di neoplasie ed ereditati dalle cellule figlie. Ovviamente la metilazione di alcuni geni del DNA è essenziale durante lo sviluppo embrionale dato che ogni cellula del nostro organismo ha il medesimo codice genetico, ma per differenziarsi avrà bisogno di una differente espressione genica. Il giusto equilibrio dei processi di metilazione e la corretta presenza di donatori del gruppo metile nei vari passaggi chimici dipendono dalla corretta presenza di: Acido folico, Vitamina B12, Vitamina B6, Betaina. Alcuni metaboliti essenziali di questo ciclo di metilazioni sono: l'Acido metiltetraidrofolico, l'aminoacido Metionina ed il suo derivato S-adenosil metionina (SAME), dovuto alla somma dell'aminoacido essenziale Metionina con l'ATP necessaria per le reazioni di metilazione in vari tessuti, infatti partecipa a moltissime reazioni di metilazione e a tutte le reazioni di sintesi dei composti contenenti zolfo, come ad esempio il Glutatione, che è il nostro principale agente depurativo ed antiossidante. I difetti di metilazione hanno ripercussioni sulla sintesi dei neurotrasmettitori, del Glutatione, delle membrane cellulari, della mielina e del Ciclo di Krebs. **Il SAME è il principale donatore di gruppi metile** e, attraverso l'enzima Catecol-orto-metil-transferasi (COMT), è capace di degradare le catecolamine attraverso la metilazione. Partecipa inoltre a centinaia di processi di metilazione ed è l'unica molecola ad agire con metilazioni nel Sistema Nervoso Centrale, perché attraversa la barriera ematoencefalica. Agendo sulla sintesi dei neurotrasmettitori come Adrenalina, Noradrenalina, Dopamina e Serotonina, è efficace in molte sindromi neuropsichiatriche in forma lieve, come la depressione. Il SAME è comunemente noto anche con il nome di Ademetionina. Il SAME, dopo la perdita del gruppo  $\text{CH}_3$  nei vari processi di metilazione si trasforma in adenosil-Omocisteina e poi in Omocisteina + adenosina. Al centro della serie di reazioni correlate alla formazione di Metionina e SAME c'è dunque **l'aminoacido Omocisteina**, che è l'unico aminoacido che non troviamo come componente di proteine, ma è solo un metabolita intermedio per la corretta formazione di altri aminoacidi. L'Omocisteina è un aminoacido non essenziale, sintetizzato a livello muscolare ed epatico attraverso la demetilazione della Metionina ed è

indispensabile sia per il metabolismo della Metionina che per la sintesi della Cisteina e dei suoi derivati, come il Glutazione. Ha un ruolo centrale nelle vie di rimetilazione e transulfurazione.



L'Omocisteina prende nell'organismo due vie: la via della Metionina e la via della Cisteina. Nel primo caso l'Omocisteina viene convertita in Metionina attraverso la rimetilazione e per questa reazione sono indispensabili la Vitamina B12, che dona il radicale metilico alla Metionina, l'Acido folico, che rimetila la Vitamina B12, la Betaina che costituisce una via alternativa. La reazione avviene ad opera dell'enzima Metionina sintasi, codificato dal gene MTR. Successivamente la Metionina viene convertita in SAME dall'enzima Metionina adenosil transferasi, codificato dal gene MAT. Nella seconda via l'Omocisteina subisce una transulfurazione a Cistationina ad opera dell'enzima Cistationina Beta Sintetasi (CBS) in presenza di Vitamina B6. La Cistationina a sua volta è necessaria per la sintesi del Cisteina, tappa importante per la biosintesi del Glutazione. Da queste considerazioni appare chiaro come tante reazioni indispensabili per la vita della cellula siano condizionate dalla presenza di un adeguato substrato e soprattutto di una adeguata funzionalità degli enzimi che catalizzano queste reazioni. Questi enzimi sono a loro volta condizionati da 2 aspetti: la presenza di **varianti genetiche nella popolazione dette polimorfismi** e la necessità della presenza di oligoelementi e vitamine per il loro funzionamento. Per comprendere quindi come una pressione ambientale possa compromettere il buon funzionamento delle reazioni chimiche è importante approfondire questi argomenti nei capitoli relativi ai Polimorfismi a singolo nucleotide e agli Oligoelementi e Vitamine. **Il dosaggio nel sangue dell'Omocisteina**, se elevato, indica una carenza di Acido folico o di Vitamina B 12, molto meno probabili sono la carenza della Vitamina B6 o della Betaina. La carenza può essere correlata a deficit nutrizionali, per esempio una dieta vegana, o a patologie gastro intestinali, come le gastriti croniche o la celiachia, che interferiscono con

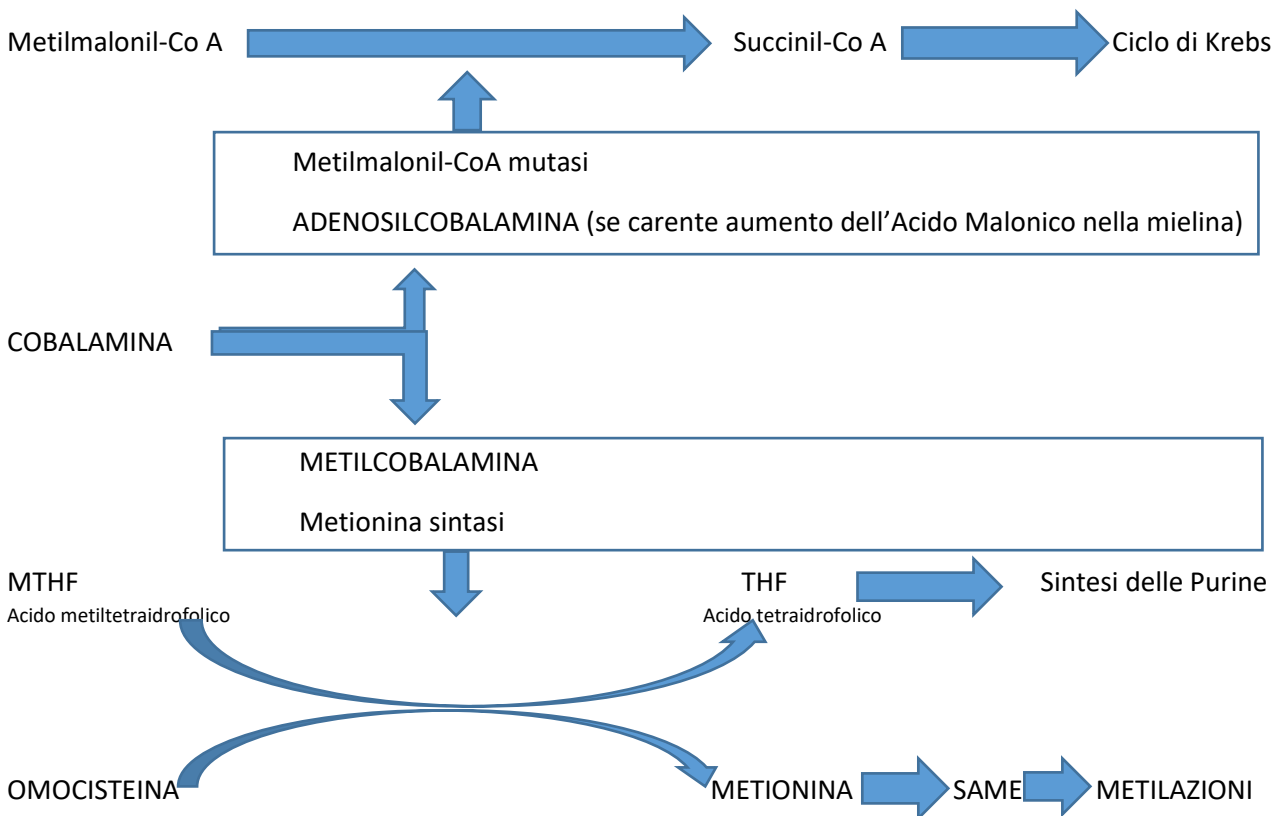
l'assorbimento della vitamina B12, oppure infine a malattie congenite come i polimorfismi genetici. Le alterazioni del gene MTHFR riguardano l'Acido folico e sono abbastanza frequenti, quelle invece dei geni MTR e MTRR riguardano la Vitamina B 12 e sono più gravi; quelle del gene CBS riguardano la formazione dei precursori del Glutazione. MTR codifica l'enzima Metionina sintasi necessario per la sintesi della Metionina e che necessita di Vitamina B12 e Acido folico. MTRR codifica il passaggio con metilazione della Cobalamina a Metilcobalamina. L'iperomocisteinemia è più frequente negli anziani. Se è molto elevata di solito è correlata a polimorfismi genetici e merita sempre un approfondimento in tal senso. L'Omocisteina alta nel sangue è comunque da prendere sempre in considerazione perché è un fattore pro infiammatorio, causa di malattie dell'endotelio vascolare. Importante in questi casi è il trattamento con Vitamina B12, Acido folico, Vitamina B6 e Betaina e sono già presenti in commercio integratori con questa associazione. Esistono comunque delle malattie metaboliche rare dovute a mutazioni genetiche che, se presenti in forma omozigote sono molto gravi per i danni neurologici presenti fin dalla nascita (diverse varianti genetiche della Acidemia metilmalonica).

# Vitamina B12 o Cobalamina

È una vitamina idrosolubile, una macromolecola che racchiude al centro un atomo di cobalto legato a quattro atomi di azoto. La forma naturale in cui di solito viene assunta è l'**Idrossicobalamina**, legata ad un gruppo OH. L'Idrossicobalamina si trova anche nel plasma e nelle cellule, ma le forme metabolicamente attive sono la **Metilcobalamina**, per il legame con un gruppo metilico, e la **5 desossiadenosilcobalamina**. L'assorbimento avviene dopo un'iniziale legame con il Polipeptide R, dal quale viene poi separata nel duodeno dove si lega al Fattore intrinseco, una glicoproteina prodotta dalle cellule parietali gastriche. Questo complesso viene riconosciuto da un apposito recettore degli enterociti dell'ileo e ciò ne permette l'assorbimento. Nel plasma si lega a due proteine di trasporto la transcobalamina I e II dando origine al complesso **olotranscobalamina** definita "vitamina B 12 biologicamente attiva", che dovrebbe essere misurata con l'esame del sangue per avere l'esatta dimensione di un'eventuale carenza. Questo complesso infatti, a differenza della frazione libera, viene riconosciuto da un recettore specifico che consente l'ingresso della vitamina nelle cellule.

L'azione Biologica della vitamina all'interno delle cellule è dunque svolta dalle sue forme:

## Metilcobalamina e Desossiadenosilcobalamina.



**La Desossiadenosilcobalamina** catalizza la reazione di conversione del Malonil Co A in Succinil Co A che viene poi avviato al ciclo di Krebs.

**La Metilcobalamina** catalizza due importanti reazioni che avvengono in contemporanea, quella catalizzata dalla Metionina sintasi, che converte l'Omocisteina in Metionina (il principale donatore di metili nella sua forma SAME) e la conversione contemporanea dell'acido folico metilato, il 5 metiltetraidrofolico MTHF, in acido tetraidrofolico, THF, reazione nella quale la Cobalamina perde il gruppo metilico, che viene acquisito dall'Omocisteina che si trasforma in Metionina e la Cobalamina riacquista il gruppo metilico dal MTFH.



**Nel caso di carenza grave della Vitamina B12 entrambe queste reazioni verrebbero a mancare, con gravi conseguenze soprattutto neurologiche.**

L'acido malonico che, in caso di carenza della B12, non viene convertito in succinico si accumula soprattutto nella guaina mielinica e la riduzione dei processi di metilazione andrebbe a ripercuotersi gravemente sui fosfolipidi della mielina. Il risultato finale, nelle forme più gravi, è una **neuropatia demielinizzante** con **atassia**. Di solito inizialmente si ha una riduzione della sensibilità vibratoria e dei riflessi con instabilità motoria. La neuropatia non è necessariamente associata all'anemia megaloblastica, quadro clinico più noto associato alla carenza di Vitamina B12.

Nell'organismo la Vitamina B12 si accumula nel fegato, che ne può contenere il 90% del totale (quantità globale stimata nell'organismo 2,5 mg) rendendo quindi poco attendibili i dosaggi ematici. Viene eliminata con la bile.

Si trova prevalentemente nei prodotti animali, soprattutto il fegato, mentre quelli vegetali non la contengono a meno che non abbiano subito una contaminazione biologica (es. Tempeh)

La carenza di Cobalamina, oltre alla nota anemia macrocitica, determina Mieloneuropatia e/o neuropatia ottica ad esordio tipicamente subacuto, più frequente con l'avanzare dell'età, variabilmente associata alla macrocitosi delle emazie. È forse la più frequente neuropatia nei paesi sviluppati.

Non si conoscono patologia da sovraesposizione alla B12.

Le cause di carenza sono:

- La dieta Vegetariana
- il deficit di produzione di Fattore Intrinseco in tutte le forme di gastrite cronica, soprattutto autoimmune (importante dosare anticorpi anti fattore intrinseco ed anti mucosa gastrica) ed in caso di gastrectomia.
- L'uso continuativo di farmaci inibitori della pompa protonica.
- Le patologie ileali
- L'insufficienza pancreatica.
- L'esposizione all'ossido nitrico
- Aumentato fabbisogno in gravidanza.

Esistono poi delle mutazioni genetiche rare che possono determinare, se presenti in forma omozigote, delle gravi neuropatie congenite, presenti alla nascita o causa di aborto (Acidemia metilmalonica con o senza omocistinuria), ma anche le forme genetiche meno rare, dovute ai polimorfismi dei geni MTR e MTRR possono causare un deficit di utilizzazione della B12, soprattutto se associate con altre cause di malassorbimento ed in questo caso la malattia può comparire anche in età adulta. MTR codifica l'enzima Metionina sintasi necessario per la sintesi della Metionina e che necessita di Vitamina B12 e Acido folico. MTRR codifica il passaggio, con metilazione, della Cobalamina a Metilcobalamina.

# Glutazione

## Azione antiossidante

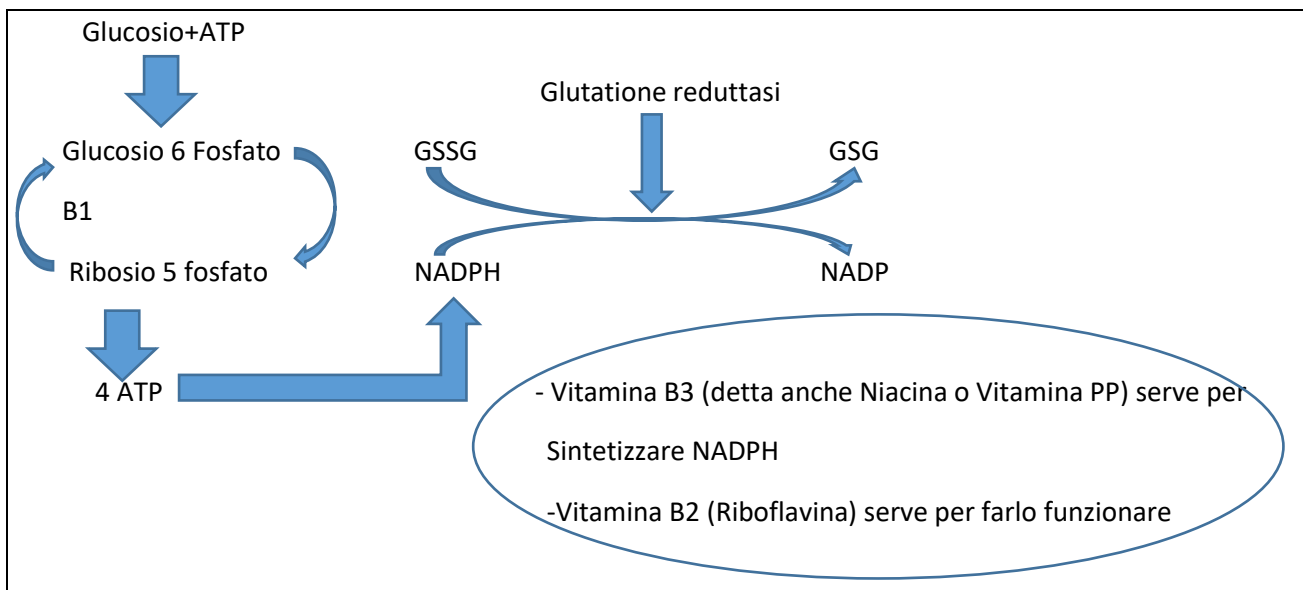
Il Glutazione è un tripeptide costituito dai seguenti aminoacidi: Cisteina, Glicina ed Acido glutammico. È prodotto dall'organismo soprattutto a livello epatico ed è la principale difesa contro i radicali liberi in quanto entra a far parte della composizione di una famiglia di enzimi antiossidanti, la **Glutazione perossidasi, GSH-Px**, che sfrutta la capacità del **Glutazione ridotto, GSH**, di cedere uno ione idrogeno  $H^+$  e neutralizzare così l'elettrone spaiato delle Specie Ossidanti. Così facendo **passa dalla forma ridotta alla forma ossidata, GSSG**:

**Glutazione ridotto (2 GSH) + Acqua ossigenata ( $H_2O_2$ ) → Glutazione ossidato (GSSG) + 2  $H_2O$**

A questo punto, ad opera di un **enzima NADPH dipendente, la Glutazione reduttasi**, il Glutazione ossidato torna in forma ridotta e riacquista la propria attività antiossidante.

Questa funzione di riduzione del Glutazione ossidato, è molto importante per la membrana cellulare dell'eritrocita, per proteggerla dall'emolisi. Infatti nella malattia del Favismo, dove c'è l'assenza della Glucosio 6 fosfato deidrogenasi, si interrompe il ciclo dei Pentoso fosfati riducendo la disponibilità di NADPH con la conseguenza di rendere impossibile la riduzione del Glutazione ossidato con la conseguente perossidazione dei lipidi di membrana e l'emolisi.

## Ciclo dei Pentoso fosfati e rigenerazione del Glutazione ossidato



La disponibilità di ATP consente la disponibilità di NADPH riducente, che può essere impiegato nell'eritrocita per la rigenerazione della Metaemoglobina ad opera dell'enzima **Metaemoglobina riduttasi** e del Glutazione ridotto ad opera dell'enzima **Glutazione reduttasi**. Una caratteristica del Glutazione è che quando viene ossidato, non diventa instabile e pro ossidante come altri agenti antiossidanti. Purtroppo è scarsamente assimilabile per via orale e per questo motivo si preferisce dare dei **precursori come la N-acetilcisteina** e favorire l'autoproduzione da parte del fegato.

Nella valutazione dello stress ossidativo è importante la **misurazione nel sangue del Glutazione e del rapporto Glutazione ridotto / Glutazione ossidato** che nelle cellule sane si mantiene 9:1. L'aumento intracellulare del Glutazione ossidato è caratteristico dell'invecchiamento.

### Azione disintossicante e chelante

Questa azione dipende dalla forma enzimatica **Glutazione transferasi, GST**. È una famiglia di enzimi, circa una ventina, con azione detossificante-antiossidante, che catalizza la coniugazione di varie molecole tossiche con il Glutazione, rendendole meno attive e più facilmente eliminabili. Tutte le GST hanno funzione detossificante verso sostanze xenobiotiche dannose, come sostanze chimiche cancerogene, sostanze inquinanti ambientali, ma anche verso agenti antitumorali. Ogni GST può riconoscere un gran numero di molecole pericolose per la cellula e legarle al Glutazione. Ciò avviene soprattutto nel fegato dove l'enzima Glutazione transferasi costituisce fino al 10% del totale delle proteine. Purtroppo la Glutazione transferasi lega al Glutazione anche farmaci antitumorali diminuendone l'efficacia. La Glutazione transferasi è un enzima di Biotrasformazione di fase II, ed agisce dopo l'intervento del Citocromo P-450, che è il principale responsabile delle reazioni della fase I. La Glutazione transferasi porta al legame tra Glutazione e xenobiotici (pesticidi, insetticidi, idrocarburi policiclici aromatici ecc.), o metaboliti di xenobiotici, o alcuni prodotti del metabolismo cellulare formando dei coniugati fortemente idrofilici, generalmente privi di attività biologica, che vengono rapidamente escreti dalla cellula e dall'organismo. Le GST svolgono quindi un ruolo protettivo nei confronti di sostanze cancerogene, come i prodotti dell'ossidazione del benzene, ma in alcuni casi, la reazione di coniugazione rappresenta un'attivazione di pro cancerogeni (idrocarburi alogenati, fumo di sigaretta, disinfettanti, pesticidi e solventi). È probabile quindi che questi enzimi svolgano un importante ruolo nella suscettibilità individuale a tumori polmonari, leucemie, epatopatie correlate all'ambiente e allo stile di vita (smog, fumo di sigaretta, abuso di alcool, ecc.), oltre alle malattie correlate all'attività professionale (tumori polmonari, della vescica, ecc. in lavoratori esposti). Il Glutazione legato a queste sostanze non si rigenera ma viene in parte eliminato attraverso la via biliare e in parte metabolizzato. Assieme all'effetto disintossicante c'è anche l'effetto chelante sui ioni come ferro, piombo, alluminio, mercurio, cadmio, di solito contenuti negli xenobiotici. Il Glutazione disintossica il fegato da: metalli pesanti, benzene e derivati, clorati, nitrati e nitriti e farmaci come il paracetamolo. L'attività biochimica delle GST ha quindi il compito di proteggere il DNA e le altre strutture cellulari dai danni prodotti dall'inquinamento. La famiglia degli enzimi GST, in base alla localizzazione nella cellula, è composta da 3 superfamiglie: i citosolici, i mitocondriali e i microsomiali (detti MAPEG, membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism).

### Polimorfismi GST

Come verrà meglio spiegato nel capitolo relativo ai polimorfismi genetici, per valutare la capacità antiossidante e detossificante di un singolo individuo non si può prescindere dalle caratteristiche dei geni codificanti gli enzimi, che possono presentare delle differenze della varietà allelica, in individui appartenenti alla stessa popolazione, con espressione fenotipica diversa della proteina codificata, e quindi anche una maggiore o minore funzionalità di un enzima. A partire dagli anni '80 sono stati identificati numerosi polimorfismi a carico delle GST. Nel caso della detossificazione operata dalla GST, ci sono nell'uomo una ventina di tipi, suddivisi in classi. Sono stati studiati soprattutto in funzione della diversa suscettibilità al cancro su base genetica, probabilmente dovuta alla diversa abilità di coniugare e quindi detossificare composti eterofili ed i loro metaboliti. Alcune GST solubili legano vari composti idrofobici tra i quali gli acidi biliari, l'eme, la bilirubina, vari steroidi e alcuni farmaci. Questo legame sembra possa essere importante per il trasporto di tali composti nella fase acquosa della cellula. Altre GST solubili legano proteine intracellulari coinvolte nella trasduzione del segnale. Le GST sono altamente polimorfiche e sono suddivise in sette classi, Alfa ( $\alpha$ ), Mu ( $\mu$ ), Pi ( $\pi$ ), Sigma ( $\sigma$ ), Theta ( $\theta$ ), Zeta ( $\zeta$ ), Omega ( $\omega$ ) e Sigma ( $\sigma$ ) in base alle caratteristiche biochimiche.

Alfa( $\alpha$ )	GSTA1 GSTA2 GSTA3 GSTA4 GSTA5
Mu( $\mu$ )	GSTM1 GSTM2 GSTM3 GSTM4 GSTM5
Pi( $\pi$ )	GSTP1

Theta( $\theta$ )	GSTT1 GSTT2
Zeta( $\zeta$ )	GSTZ1
Omega( $\omega$ )	GSTO1 GSTO2
Sigma ( $\sigma$ )	PGD2

Le varianti alleliche osservate possono originare da mutazioni (sostituzioni nucleotidiche) o, meno comunemente, da delezioni. La variabilità allelica delle GST è molto comune nella popolazione e determina differenze individuali nel metabolismo dei farmaci e degli xenobiotici.

Per conoscere la capacità potenziale di un individuo, sia antiossidante che detossificante, si può richiedere l'esame del Genoma, o di parte di esso, che permette di valutare abbastanza facilmente i Polimorfismi a singolo nucleotide. Presso vari laboratori sono disponibili pacchetti di esami che comprendono l'analisi di vari geni, raggruppati tra quelli che riguardano la patologia che si vuole studiare, generalmente si tratta di patologie multifattoriali. Si ha così una immagine della predisposizione di un individuo riguardo una malattia o un gruppo di malattie. Per quanto riguarda le malattie "ambientali" lo studio dei geni che codificano proteine strettamente correlate con la protezione dall'ossidazione e con la detossificazione è sicuramente utile, anche se è possibile che un individuo geneticamente svantaggiato non si ammali mai perché, avendo uno stile di vita ottimale ed abitando in regioni a basso inquinamento, riesce a smaltire sia i radicali liberi che le sostanze xenobiotiche. Al contrario un individuo con un corredo genetico ottimale ma con un cattivo stile di vita (alimentazione errata, sedentarietà, alcool, fumo, droga ecc. ecc.) e abitante in una zona altamente inquinata (es. "terra dei fuochi" o vicinanze all'ILVA di Taranto) potrebbe non riuscire ad eliminare la totalità delle sostanze dannose e cancerogene assorbite.

Questi esami sono comunque indispensabili, assieme a tanti altri, se si vuole passare da una medicina semplicemente curativa ad una preventiva o meglio predittiva, non solo genericamente adatta a tutta la popolazione, ma specifica per un determinato individuo.

Per essere più concreti e esplicativi, attenendosi all'esempio dello studio dei polimorfismi a gene singolo relativi agli enzimi GST, il laboratorio ci darà una risposta così articolata:

- di solito vengono presi in considerazione, perché ritenuti più importanti, GSTM1, GSTP1, GSTT1. Nel caso di GSTM1 e GSTT1 si ricercherà l'eventuale delezione del gene, che è la forma polimorfica svantaggiosa rispetto alla normalità della popolazione, cioè l'assenza del gene di queste proteine con conseguente assenza dell'attività enzimatica relativa. Cosa può comportare ciò? Nel caso sia presente la delezione di GSTM1 o GSTT1, "GENOTIPO NULLO" o "DEL" sarà la risposta del laboratorio relativa a uno o ad entrambi i geni e vorrà dire che è assente l'attività enzimatica codificata dai relativi geni. La percentuale di individui con genotipo nullo GSTM1 è sensibilmente più elevata nelle popolazioni caucasica ed asiatica piuttosto che in quella africana, mentre, la frequenza del genotipo nullo del GSTT1 sarebbe del 20 % tra caucasici, del 40% tra africani ed all'incirca del 60% tra gli asiatici.
- Per i polimorfismi della GSTP1 sono state identificate delle varianti alleliche che comportano alterazioni di alcuni aminoacidi della proteina codificata con alterazioni dell'attività enzimatica. "GENOTIPO A/A normale attività enzimatica" sarà la risposta del laboratorio in caso di omozigosi normale, cioè quello più frequente nella popolazione, "GENOTIPO A/G" e conseguente "ridotta attività enzimatica", in caso di polimorfismo con eterozigosi e "GENOTIPO G/G" e "ridotta attività enzimatica" in caso di polimorfismo con omozigosi. Tra le principali conseguenze biologiche a carico dei polimorfismi della GSTP1, di particolare importanza risultano lo sviluppo di tumori e la chemioresistenza (per esempio al clorambucile, utilizzato come chemioterapico nel trattamento della leucemia linfocitica cronica).

Cellule di soggetti con Genotipo nullo del GSTM1 e GSTT1, e polimorfismi sfavorevoli di GSTP1 sono pertanto maggiormente suscettibili di danni al DNA in relazione all'esposizione a diversi agenti cancerogeni, per esempio gli idrocarburi poliaromatici come il benzene (\*).

Conoscere quindi la predisposizione genetica di un soggetto esposto (sia esso un lavoratore del settore o un abitante di una zona altamente inquinata), permette una medicina preventiva altamente efficace.

(\*) Per chi vuole approfondire e comprendere l'importanza dal punto di vista della Medicina Ambientale degli enzimi GST consiglio un interessante lavoro sulla sensibilità al benzene, soprattutto in addetti ai lavori con maggiore esposizione, "Studio dei polimorfismi delle Glutazione transferasi nell'aumentata suscettibilità ai processi tumorali: caratterizzazione strutturale e funzionale della Glutazione transferasi di cianobatterio" [CICCONE, SARAH 2010](#), disponibile su internet.

### **Polimorfismi GPX1 (GSH-Px)**

Per quanto riguarda i polimorfismi della Glutazione perossidasi viene studiato il gene GPX1. Sono state identificate delle varianti alleliche che comportano alterazioni dell'enzima codificato con alterazioni della sua funzionalità. "GENOTIPO C/C normale attività enzimatica" sarà la risposta del laboratorio in caso di omozigosi normale, cioè quello più frequente nella popolazione, "GENOTIPO C/T" e conseguente "ridotta capacità antiossidante e detossificante", in caso di polimorfismo con eterozigosi e "GENOTIPO T/T" e "ridotta capacità antiossidante e detossificante" in caso di polimorfismo con omozigosi.

### **Diminuzione del Glutazione ridotto**

I processi di depurazione dell'organismo dalle sostanze tossiche avvengono soprattutto nel fegato e sono spesso causa di stress ossidativo. Il cattivo funzionamento degli enzimi collegati al Glutazione comporta l'accumulo di sostanze tossiche e radicali liberi con conseguente danno soprattutto epatico. Per esempio Cobalto e Nichel inducono una diminuzione del Glutazione intracellulare già in dosi sub tossiche.

# Vitamina C o Acido ascorbico

È una delle vitamine più importanti per le sue molteplici azioni. Ha fondamentalmente due azioni biologiche: l'azione non enzimatica e l'azione enzimatica.

## Azione non enzimatica

L'acido ascorbico ha una forte azione antiossidante, con formazione di radicali liberi poco ossidanti ed in grado di ritornare alla forma iniziale di acido ascorbico per un enzima dipendente dal Glutathione. In alternativa può diventare in parte ossalato ed alcuni suoi metaboliti possono danneggiare le proteine per glicazione

## Azione enzimatica

Interviene nella **dopamina beta ossigenasi** che trasforma la dopamina in noradrenalina. Interviene nella sintesi della Carnitina indispensabile per il trasporto degli acidi grassi nei mitocondri. Con varie modalità partecipa alla formazione di aminoacidi come Prolina e Lisina ed al metabolismo della Tirosina.

**L'interesse maggiore è dunque per la spiccata azione antiossidante, infatti mantiene la concentrazione di GSH (Glutathione ridotto) intracellulare** e previene la formazione delle nitrosammine, proteggendo dalla mutagenesi.

Esistono moltissimi studi sulla vitamina C che dimostrerebbero una riduzione degli eventi coronarici con l'integrazione ed un maggiore incidenza del rischio di cancro con la carenza e ciò è in accordo con quanto ci si aspetta riducendo lo stress ossidativo.

A differenza di altri antiossidanti, come la vitamina A la vitamina E, dosaggi alti di vitamina C non avrebbero effetto di aumento della mortalità. Viene assorbita per trasporto attivo nell'intestino tenue e l'assorbimento è condizionato dalla dose: maggiore è la dose somministrata minore è percentualmente la dose assorbita. Dopo l'assorbimento passa nel sangue si distribuisce in tutti i tessuti e nelle cellule circolanti, maggiormente nel fegato e nei muscoli. È escreta per via renale come acido ossalico. Dosaggi superiori a 200 mg assorbiti sono pro ossidanti e quindi sono da evitare soprattutto nei soggetti anziani con malattie croniche da stress ossidativo.

Le fonti prevalenti sono i vegetali come ribes nero, agrumi, fragole, kiwi, cavoli e broccoli.

La carenza provoca lo Scorbuto (debolezza, petecchie emorragiche o emorragie, febbre, depressione) e forme subcliniche più lievi sono dovute ad alterazioni alimentari con poca frutta e verdura.

## Oligoelementi

Calcio, magnesio, sodio, potassio, fosforo, zolfo, vengono definiti macro elementi perché devono essere in quantità maggiore rispetto agli altri. Altri elementi sono ugualmente necessari per i processi biologici, ma in quantità molto inferiori e per questo vengono definiti oligoelementi: ferro, rame, zinco, selenio, manganese, iodio, molibdeno, cobalto, silicio, vanadio, nichel. Altri oligoelementi sono presenti ma di questi si conoscono poco le funzioni: cromo, fluoro, alluminio, cadmio, boro. Ciascun oligoelemento partecipa a determinate reazioni chimiche, spesso come fattore indispensabile all'attività di specifici enzimi e quindi **i metalli che interferiscono con l'assorbimento degli oligoelementi, sostituendosi spesso a loro, bloccano delle attività enzimatiche**. Molti oligoelementi entrano anche a far parte della struttura di alcune aminoacidi e quindi delle proteine, talvolta modellandone anche la forma, dalla quale dipende il legame a specifici recettori.

## Metallotioneine

Prima di descrivere le principali caratteristiche di alcuni oligoelementi è necessario spiegare cosa sono le **Metallotioneine**: sono delle proteine, ricche soprattutto di cistina, aminoacido con alto contenuto di zolfo, che servono a **mantenere l'omeostasi intracellulare dei metalli, principalmente lo zinco**. Sono localizzate a livello cellulare nell'Apparato del Golgi e partecipano attivamente alla chelazione dei metalli tossici come cadmio e mercurio, che vengono così inattivati e trasportati ai reni ed al fegato. Sono soprattutto prodotte in risposta al livello di zinco e rame, ma anche di cadmio e mercurio. La loro produzione è regolata attraverso il fattore di trascrizione MTF-1 (Metal Binding Transcription Factor) di cui lo zinco il principale induttore (cosa è un fattore di trascrizione? Vedi il capitolo sulla infiammazione cronica di basso grado). Quindi l'individuazione dell'intossicazione ad opera di vari metalli potrebbe avvalersi del dosaggio delle Metallotioneine. Dato che normalmente la cellula non produce tioneine specifiche per metalli tossici, poiché la loro funzione principale è comunque quella di mantenere la normale omeostasi dello zinco, appena il livello cellulare dei metalli si innalza si attiva subito la trascrizione del DNA con la produzione di queste proteine con attività chelante ed antiossidante. Purtroppo è molto difficile reperire laboratori in grado di misurare le Metallotioneine. **Comunque alti valori di Metallotioneine nell'organismo corrispondono ad una alta concentrazione di metalli tossici come cadmio e mercurio oppure con un'alta concentrazione di zinco, oltre che come marker di stress ossidativo**.

**Anche il dosaggio delle porfirine urinarie, se elevato può essere un indice aspecifico di intossicazione da metalli pesanti.**

## Zinco

È un elemento essenziale per la crescita e lo sviluppo di tutte le forme di vita.

Il corpo umano richiede 10- 20 mg di zinco nella dieta quotidiana e contiene 2-3 grammi ogni 70 chilogrammi.

I livelli plasmatici normali sono 80- 120 µg/dl, ma purtroppo non sono indicativi della reale possibile carenza, perché il 99% dello zinco assorbito si trova all'interno delle cellule, quasi esclusivamente legato ad aminoacidi, principalmente cisteina e istidina. Un aumento dei livelli di zinco determina la produzione di Metallotioneine con effetto tampone. Viene eliminato principalmente per via intestinale.

Gli alimenti a maggiore contenuto di zinco sono: la carne, le uova, i crostacei, il latte, i cereali e i vegetali (ma nei vegetali è meno disponibile perché può legarsi all'acido fitico generando dei complessi non

assorbiti). Carenze di zinco si riscontrano nella nutrizione parenterale prolungata, nella gastrite atrofica dell'anziano (assieme alla carenza di ferro e vitamina B12), nelle malattie renali, nella dialisi, nelle ustioni e nelle malattie intestinali, come il morbo di Crohn, le coliti, nell'alcolismo e nel trattamento con diuretici. Partecipa a diverse funzioni biochimiche: **funzione catalitica, funzione strutturale, funzione regolatoria e trascrizionale, funzione antiossidante.**

### Funzione catalitica

Lo Zinco esercita questa funzione da solo o in associazione ad altri oligoelementi. Sono oltre 300 gli enzimi che contengono zinco. Elenco di seguito alcuni importanti esempi.

**Le Proteasi come le aminopeptidasi e la carbossipeptidasi** sono enzimi in grado di rompere i legami peptidici in una precisa posizione, agendo nella digestione proteica con la formazione di peptidi di varia lunghezza. Le aminopeptidasi sono secrete dal duodeno mentre la carbossipeptidasi è prodotta dal pancreas.

**L'anidrasi carbonica** è un enzima molto importante per l'equilibrio acido base. È implicata nello scambio tra CO<sub>2</sub> e bicarbonati nel sangue e l'eliminazione di CO<sub>2</sub> col respiro. È situata all'interno del globulo rosso e nelle cellule del tubulo renale.

**L'alcol deidrogenasi** trasforma l'alcol in acetaldeide con una reazione di ossidazione che ci protegge velocemente dai danni dell'alcol. È situata nello stomaco e nel fegato.

**La lattico-deidrogenasi** catalizza la conversione dell'acido lattico in piruvico.

Vari enzimi coinvolti nella riparazione replicazione trascrizione degli acidi nucleici come la **DNA polimerasi e la RNA polimerasi.**

### Funzione strutturale

Lo zinco entra a far parte delle cosiddette "**proteine a dita di zinco**". Queste proteine sono codificate dall'uno per cento del genoma umano. **Lo zinco presente nella struttura proteica permette alla catena di aminoacidi di ripiegarsi acquistando una forma capace di legarsi al DNA in siti specifici per la regolazione dell'espressione di alcuni geni codificanti.** Per esempio è implicato nella funzione di estrogeni, testosterone, vitamina D, insulina. Le proteine leganti zinco sono implicate anche nell'adesione cellulare.

### Funzione antiossidante

Tramite enzimi come la superossidodismutasi, le Metalloionine e la protezione dalla perossidazione degli acidi grassi nelle membrane cellulari, agisce come un importante elemento antiossidante.

**Alcuni metalli pesanti, soprattutto cadmio e mercurio, possono, in caso di intossicazione sia acuta che cronica, sostituire lo zinco determinando quindi l'impossibile funzionamento di moltissimi importanti enzimi come la carbossipeptidasi, e danneggiando la funzione delle "proteine a dita di zinco", inibendo il loro legame con il DNA e danneggiandone la trascrizione.**

Un eccesso di zinco può interferire con il metabolismo del rame.

La carenza di zinco si ripercuote sui tessuti con proliferazione cellulare veloce, come il sistema immunitario che risulta per questo indebolito. Per il medesimo motivo gli annessi cutanei come unghie e capelli risentono di questa carenza. Anche la funzione dell'ormone gonadotropo GH, in carenza di zinco, può determinare alterazioni della crescita. Nel sistema nervoso centrale la carenza di zinco può interferire con la funzione del neurotrasmettitore glutammato. Anche l'asse ipotalamo-ipofisi- cortico- surrene può essere alterato in carenza di zinco.



## Rame

Il fabbisogno giornaliero nell'adulto è di 1,5-3 mg die. In un individuo adulto sono presenti circa 70- 100 mg ogni 70 chilogrammi di peso. I livelli plasmatici normali sono compresi tra 60-160 µg/dl.

L'assorbimento del rame avviene nell'intestino tenue ad opera di trasportatori specifici e poi si lega a varie proteine all'interno dell'enterocita. L'assorbimento del rame può essere inibito da alti livelli di zinco, ma non il contrario. Viene eliminato con la bile. Il fegato ne controlla l'eliminazione in base al livello di metalloproteinine. Gli alimenti più ricchi di rame sono il fegato ed il rene; altri alimenti sono la frutta secca, i cereali integrali, i legumi, la carne ed il cioccolato. Viene trasportato nel sangue per il 95% dalla Ceruloplasmina, una proteina sintetizzata dal fegato, dove si lega al rame e lo redistribuisce poi ai tessuti. La Ceruloplasmina è fondamentale per il metabolismo del ferro perché ossida lo ione ferroso (Fe<sup>2+</sup>) in ferrico (Fe<sup>3+</sup>) permettendone così il legame con la transferrina e la rimozione del ferro dai depositi tissutali. La carenza della Ceruloplasmina presente nel Morbo di Wilson provoca quindi sintomi da carenza di ferro.

### Funzione antiossidante

È presente assieme allo Zinco nell' **enzima Superossidodismutasi (SOD)** nelle forme citoplasmatiche ed extracellulari, mentre la forma mitocondriale dell'enzima è caratterizzata dalla presenza del Manganese come cofattore. È uno dei principali enzimi antiossidanti:

$2 O_2^-$  (anione superossido) +  $2 H^+$   $\rightarrow$   $O_2$  (ossigeno) +  $H_2O_2$  (acqua ossigenata). Alla quale deve poi far seguito la reazione:  $2 O_2 + H_2O_2 \rightleftharpoons O_2 + 2 H_2O$  ad opera dell'enzima Catalasi, per completare l'azione di smorzamento dell'azione pro ossidante dei radicali.

### Funzione energetica

Insieme al ferro è presente nella **Citocromo C Ossidasi**, enzima presente nelle creste della membrana interna del mitocondrio, coinvolto nella catena di trasporto di elettroni con produzione di energia, sotto forma di ATP.

### Funzione regolatoria

È presente nella **Tirosinasi**, che opera la sintesi della **DOPA** (diidrossifenilalanina) a partire dalla Tirosina. Dalla DOPA deriva la **Dopamina**, importante neurotrasmettitore dal quale dipendono il movimento, la memoria, la sensazione di piacere, la ricompensa, la produzione di prolattina, la regolazione del sonno, e l'attenzione. Dalla Dopamina derivano la **Noradrenalina** prima e l'**Adrenalina** poi, sempre ad opera di un enzima in cui è presente il rame, la **Dopamina β ossigenasi**. La **Tirosinasi** opera infine anche la sintesi della **Melanina**, sempre con la DOPA come precursore.

### Funzione strutturale

È presente nella **Lisinopril ossidasi** che partecipa ai legami tra collagene ed elastina nel tessuto di sostegno connettivale.

La carenza di Rame è dipendente dalle malattie che determinano malassorbimento, come il morbo celiaco, la nutrizione parenterale prolungata e l'eccesso di zinco nella dieta, di solito a causa di supplementazioni esagerate di zinco. Inoltre è possibile la carenza o l'eccesso conseguenti a malattie genetiche (morbo di Menkes, morbo di Wilson). La carenza patologica provoca anemia ipocromica a causa della riduzione dell'attività della Ceruloplasmina. Sempre la riduzione provoca anomalie delle ossa per alterazioni del collagene, ipopigmentazione della cute, riduzione dell'elasticità sia cutanea che delle pareti

vascolari, difetti neurologici e diminuzione delle difese antiossidanti. L'intossicazione da Rame è rara e più spesso di origine professionale (viticoltori e uso del solfato di rame come fungicida).

## Manganese

Il Manganese è presente in quantità massima di 20 mg per 70 Kg di peso, localizzato soprattutto nelle ossa, nel fegato, pancreas e reni. Il manganese è coinvolto in molti processi enzimatici importanti per la vita. Lo troviamo come cofattore in molte reazioni enzimatiche importanti:

- Ha un ruolo importante nel metabolismo osseo: è un **cofattore dell'enzima Glucosiltransferasi e prende parte alla formazione dei proteoglicani favorendo l'incorporazione del calcio nel tessuto osseo.**
- Permette la **sintesi della Glutamina dall'Acido Glutammico** (entrambi aminoacidi da non confondere con il sale glutammato di sodio). La glutamina è il principale aminoacido usato dall'organismo come fonte di atomi di Azoto per la sintesi di aminoacidi e delle basi puriniche e pirimidiniche. Importantissimo è l'enzima che catalizza la reazione, cioè la **Glutamina sintetasi**, che necessita del manganese come cofattore. La Glutamina è l'aminoacido più presente nel SNC ed è il precursore del neurotrasmettitore Glutammato.
- **La Superossidodesmutasi (SOD)** è uno dei più importanti enzimi con attività antiossidante. Abbiamo 3 varianti dell'enzima SOD: la SOD 1 e la 3, che hanno come cofattori l'insieme di Rame e Zinco, la SOD 1 è situata nel citoplasma, mentre la SOD 3 è extracellulare, e la **SOD 2, che ha come cofattore il Manganese, ed è situata nel Mitocondrio, sede del maggior numero di reazioni ossidanti con produzione di radicali liberi. La Superossidodesmutasi catalizza la reazione:**  

$$2 O_2^- + 2 H^+ \rightleftharpoons O_2 + H_2O_2$$
**Alla quale deve poi far seguito la reazione:  $2 O_2 + H_2O_2 \rightleftharpoons O_2 + 2 H_2O$  ad opera dell'enzima Catalasi, per completare l'azione di smorzamento dell'azione pro ossidante dei radicali.**
- Nella Gluconeogenesi è un cofattore della **Piruvato carbossilasi**.
- Nel metabolismo dell'acido urico è presente nella **Xantinaossidasi**.

Quindi il significato del Manganese come oligoelemento consiste in un'azione sulla tolleranza glucidica, sul metabolismo delle ossa e delle cartilagini, sul bilancio del Glutammato nel SNC e sulla capacità antiossidante di ogni individuo. È dannoso sia in eccesso che in difetto.

Fonti di Manganese: cereali, legumi, noci, caffè, the, alcuni tipi di frutta e vegetali. ecc. Per quanto riguarda la possibile intossicazione professionale è possibile durante la saldatura ad arco con elettrodi consumabili contenenti manganese, perché si formano ossidi di manganese e l'inalazione ha un effetto tossico sui polmoni e sul sistema nervoso centrale, con aumento nei mitocondri dei gangli basali dell'encefalo. Ne consegue il trasporto attraverso la barriera Ematoencefalica mediante DMT-1 (divalent metal transporter 1) proteina che lega una varietà di metalli bivalenti tra cui il cadmio, il rame, il ferro ed il manganese. La penetrazione di Manganese nel Sistema Nervoso Centrale provoca sintomi simil parkinsoniani, anche con piccoli carichi di Manganese.

Poiché viene eliminato dal fegato attraverso i Sali biliari anche una importante epatopatia potrebbe causare livelli elevati di Manganese nel sangue.

## Selenio

Il Selenio è un metallo e ha alcune somiglianze con l'arsenico. In natura è raro. Nel cibo si trova in forma organica nella quale è meglio assimilato, soprattutto nel pesce e nelle frattaglie come il cuore ed il fegato, ma anche in alcuni cereali ed in semi oleosi. La sua presenza in altri alimenti come frutta e ortaggi è molto

condizionata dalla ricchezza nel terreno di questo minerale. È indispensabile per il funzionamento cellulare. Nell'organismo umano è presente soprattutto nel fegato e nella tiroide, legato ad aminoacidi come Seleno metionina e Seleno cisteina ed entra quindi a far parte di varie proteine come la Seleno proteina P e la Seleno proteina W, considerate antiossidanti. Un corpo di 70 chilogrammi contiene dai 13 ai 20 mg di Selenio. Nel sangue i valori normali sono compresi tra i 70 ed i 110 µgr/L.

È un componente indispensabile di alcuni enzimi come la **Glutazione perossidasi e la Tioredossina disolfuro reduttasi**. Il suo compito principale nel nostro organismo è ostacolare l'ossidazione delle molecole nelle membrane cellulari, quindi ha principalmente un effetto antiossidante in sinergia con la Vitamina E.

### Selenio e Glutazione perossidasi (GSH-Px)

Attraverso la reazione:  $2 \text{GSH (Glutazione ridotto)} + \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{GSX-Px}} \text{GSSG (Glutazione ossidato)} + 2 \text{H}_2\text{O}$

contrasta l'aumento dei radicali liberi, soprattutto specie ossidanti come il Perossido d'idrogeno (acqua ossigenata  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) nelle membrane cellulari, dalla cui integrità dipende la vita della cellula.

### Selenio e Tioredossina disolfuro reduttasi

Catalizza la reazione: tioredossina +  $\text{NADP}^+ \rightleftharpoons$  tioredossina disolfuro +  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  ed appartiene alla classe delle proteine enzimi ossido riduttasi, contrastando quindi i radicali liberi.

### Selenio e Tiroide

Agisce a livello tiroideo come Seleno cisteina, parte integrante della Desiodasi, enzima di conversione dell'ormone T4 in T3 (ormone attivo). Carenze di Iodio e Selenio favorirebbero le malattie tiroidee, anche quelle autoimmunitarie. Anche a livello tiroideo esplica, con il Glutazione, la sua azione antiossidante.

### Selenio e metalli pesanti

C'è competizione tra l'assimilazione tra Selenio e Mercurio, Cadmio ed Argento, e quindi sembra svolgere un ruolo di antagonista nelle intossicazioni da metalli pesanti. Al tempo stesso questi metalli possono agire diminuendo la presenza del Selenio e la sua azione enzimatica.

### Carenza

La sua carenza è soprattutto nei soggetti con malassorbimento o in età avanzata, sopra i 90 anni. Può essere ridotto anche nell'alimentazione vegana se associata a cibi provenienti da terreni poveri di selenio. Bassi livelli di Selenio sono stati correlati a malattie cardiache (anche rare e prevalenti in Cina), maggior rischio di tumore al pancreas, cataratta, invecchiamento precoce, malattie tiroidee, e tutte le malattie croniche correlate ai danni causati dai radicali liberi. Potrebbe interessare anche la Policistosi ovarica.

### Eccesso

Se assunto in eccesso (integratori) può causare danni agli annessi cutanei, come distrofie ungueali e perdita di capelli. In intossicazioni gravi può dare nausea, vomito, diarrea, confusione mentale, affaticamento, alito con odore di aglio, ed in casi estremi cirrosi epatica ed edema polmonare. È sconsigliato nel paziente con familiarità al diabete mellito perché sembra che possa aumentarne il rischio.

### Integrazione

La sua integrazione è utile nelle malattie croniche correlate allo stress ossidativo, a cicli, e nelle malattie tiroidee resistenti alle terapie.

# Disglicemia ed AGEs

## **Glicazione proteica non enzimatica (glicotossine)**

In condizioni particolari di aumento della glicemia e dell'insulina, oppure per alimentazione sbagliata o per predisposizione genetica si può avere il fenomeno della Glicazione proteica non enzimatica.

Con il termine s'intende una reazione non enzimatica, casuale, tra glucosio o fruttosio ed amminoacidi proteici con formazione di AGEs (Advanced Glycation end products, prodotti finali della glicazione avanzata). Sono glicosidi formati dalla reazione non enzimatica tra uno zucchero ed una proteina o un lipide (in questo caso ALEs), al contrario di quella enzimatica che avviene in siti precisi ed è necessaria per la funzione di certe proteine. Gli AGEs pregiudicano il funzionamento delle proteine interessate, sono altamente ossidanti e quindi causa di stress ossidativo ed inoltre, dopo formati, si depositano nella matrice extracellulare dove, oltre allo stress ossidativo, scatenano la reazione infiammatoria perché riconosciuti come estranei, "non self", dal sistema immunitario. Sono strettamente correlati all'alimentazione e al tipo di cottura. Si formano per una serie di reazioni chimiche delle quali solo quelle iniziali sono reversibili. **L'emoglobina glicosilata, parametro di riferimento per il Medico riguardo il Diabete, è un tipico prodotto della glicazione non enzimatica.**

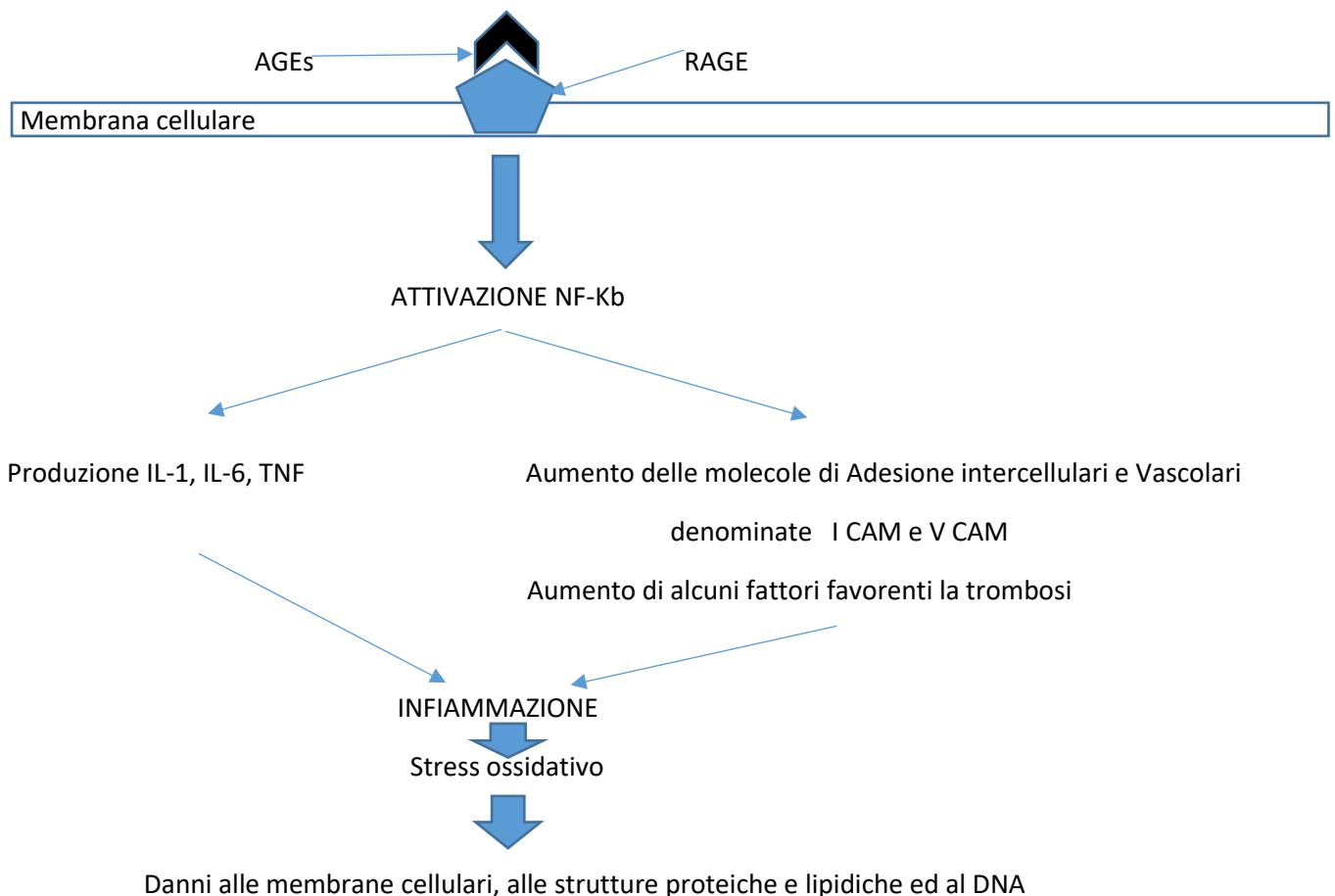
### **Vengono distinti AGEs endogeni ed esogeni.**

Quelli endogeni si formano quando le proteine si trovano in un ambiente ad alta concentrazione di zuccheri con aumento dell'insulina, quindi soprattutto nel Diabete e nella Sindrome metabolica.

Quelli esogeni dipendono da certi cibi e dalla loro cottura. L'introduzione di AGEs esogeni avviene con certi cibi fritti o grigliati o al forno, soprattutto nelle loro superfici abbrustolite, anche del pane, dei biscotti, dei prodotti da forno, dei cibi grigliati e delle patate fritte. L'Acrilammide è uno degli AGEs che si formano da cibi amidacei cotti al forno, fritti o arrostiti ad alte temperature 120-150°C, oppure dalla tostatura del caffè. Negli animali può sviluppare mutazioni geniche e tumori in vari organi, mentre esistono lavori contrastanti per quanto riguarda l'uomo, per tale motivo l'IARC (Associazione Italiana Ricerca sul Cancro) ha classificato l'Acrilammide tra i "probabili cancerogeni per l'uomo", mentre l'EFSA (l'Agenzia europea per la sicurezza alimentare) invita a limitarne il consumo. Comunque gli AGEs agirebbero soprattutto nelle cellule con vita più lunga come quelle del SNC della cute e dell'osso. Possono determinare danni al DNA per la rottura delle eliche con alterazione dei processi di riparazione, replicazione e trascrizione. Solo il 10% degli AGEs ingeriti viene assorbito. Dopo l'assorbimento intestinale, attraverso la vena Porta, entrano in circolo ed una parte viene eliminata con le feci mentre un'altra parte viene filtrata ed eliminata per via renale. Gli AGEs alterano la struttura e la funzione delle proteine, dei grassi e del DNA.

**L'assorbimento degli AGEs viene ritenuto uno dei meccanismi fondamentali dell'invecchiamento assieme all'ossidazione e al declino ormonale.** Agiscono con danni alla pelle ed alla matrice extracellulare. Con questo termine "matrice extracellulare" si intende quello spazio intercellulare interstiziale che dovrebbe essere considerato un organo a se stante, date le relazioni con il sistema di sostegno, la circolazione sanguigna e linfatica, l'apparato immunitario ed è sede di reazioni chimiche con accumulo di metaboliti, che risultano dei veri segnali tra le cellule e che possono essere fortemente condizionati da tanti fattori (<https://www.retepas.com/ambulatori/5017-anatomia-scoperto-un-nuovo-organo-nel-corpo-umano/>). Gli AGEs aumentano l'attività dei fibroblasti con attivazione di enzimi, metallo proteinasi e radicali liberi, che portano alla morte dei fibroblasti, all'aumento della loro produzione e quindi a senescenza cellulare. L'intero processo favorisce la produzione di Citochine pro infiammatorie con alterazioni della funzione estetica, dell'elasticità e della funzione del derma e della cute. Altro tessuto

prediletto dagli AGEs è l'endotelio arterioso, essendo a maggior contatto con il glucosio e l'insulina plasmatici. La loro presenza nella matrice extracellulare dei vasi comporta l'aumento dello stress ossidativo oltre all'inibizione dell'Ossido Nitrico necessario per la vasodilatazione, associato a rigidità della parete per l'azione sulle fibre collagene, sull'Endotelina 1. Tutto ciò comporta modifiche dell'endotelio con deposizione di LDL, Fibrina, aumento dell'aggregazione piastrinica, infiammazione, trombogenesi, attivazione di citochine e richiamo di macrofagi, in definitiva tutto quello che chiamiamo "placca aterosclerotica" e che è frutto di una situazione multifattoriale. Le proteine glicosilate hanno un ruolo fondamentale nelle lesioni cellulari e tissutali nel Diabete, nell'invecchiamento vascolare e nell'insufficienza renale. La glicazione può alterare proteine plasmatiche circolanti come albumina, insulina, immunoglobuline, enzimi come la superossidodismutasi plasmatica, SOD, e l'alcoldeidrogenasi epatica, ma altera anche molte altre proteine come l'emoglobina, l'eparina, l'antitrombina III ecc. Conseguenze della glicazione dei tessuti sono l'aumento della permeabilità vascolare e l'opacizzazione del cristallino. Favorisce i depositi di albumina, immunoglobuline, complemento e lipoproteine nelle pareti arteriose con varie conseguenze come la perdita di elasticità dei grandi vasi. La glicazione perturba la funzione del DNA con possibili danni cromosomici e danneggia i processi di riparazione, replicazione e trascrizione. La glicazione delle proteine LDL induce varie alterazioni che riducono la possibilità di riconversione in colesterolo. Ma non sono solo gli AGEs che dobbiamo evitare: quando i grassi e gli oli vengono riscaldati ad alte temperature, si formano gli ALEs (Advanced Lipoxidation End products) che sono altrettanto dannosi e, anche essi, altamente pro-infiammatori. **Le proteine AGEs sono riconosciute da uno specifico recettore che si trova sulla superficie delle cellule che viene chiamato RAGE (Receptor for Advanced Glycation end products). L'attivazione del recettore provoca infiammazione, infatti attiva il fattore di trascrizione nucleare NF- $\kappa$ B.** L'infiammazione è poi strettamente correlata allo stress ossidativo, alla trombogenesi, all'infiammazione della parete vascolare ed all'angiogenesi patologica, contribuendo a molte delle complicanze a lungo termine del Diabete.



La formazione degli AGEs è casuale e dipende quindi dalla durata dell'aumento della glicemia e dal turnover proteico per quanto riguarda gli AGEs endogeni. Per quanto riguarda quelli esogeni dipende dalla qualità dei cibi e dalla cottura, dalle temperature raggiunte, soprattutto se superiori a 180°C. **La formazione degli AGEs viene oggi considerato un processo fisiologico fino a quando non supera le capacità di depurazione dell'organismo e molto dipende dall'alimentazione.**

Gli interventi farmacologici e nutrizionali devono situarsi a monte della formazione perché le fasi finali della glicazione non enzimatica sono irreversibili.

Esistono dei lavori che dimostrerebbero come l'**Aminoguanidina**, un derivato dell'aminoacido guanidina, si legghi ai prodotti della fase iniziale della glicazione formando un prodotto areattivo in grado di prevenire la formazione di microvasi a livello retinico, la macro angiopatia renale, la neuropatia diabetica e di migliorare l'elasticità della parete arteriosa. Può essere utile nella prevenzione della cataratta.



Anche la **Carnosina** (o L- carnosina) sarebbe utile in tal senso. È una molecola naturale presente nel muscolo e nel cervello ed anche un biomarcatore potenziale dell'invecchiamento, perché è alta nei muscoli che si contraggono attivamente, mentre è bassa nelle distrofie muscolari (tipo Duchenne). La concentrazione muscolare diminuisce con l'età. La Carnosina entra in competizione con altre fonti di aminoacidi per la glicazione formando carnosina glicosilata soprattutto con l'idrossiacetone oltre che con glucosio e fruttosio. È anche antiossidante e protegge le membrane cellulari. Il suo uso come integratore ridurrebbe AGEs potenzialmente cancerogeni, radicali liberi e tossine. È priva di tossicità per l'organismo che è in grado di eliminarla. Avrebbe quindi una azione benefica nella cataratta, sull'apparato immunitario, prolungherebbe la vita dei fibroblasti e rivitalizzerebbe le cellule con senescenza avanzata. Viene usata come anti-aging e nei processi di cicatrizzazione degli anziani. Sarebbe potenzialmente anticancerogena ed agirebbe sui danni da AGEs e  $\beta$  amiloide come protettore nella malattia di Alzheimer. Avrebbe anche un'azione chelante sui metalli pesanti. È quindi una molecola molto interessante nel diabete e nelle malattie croniche dell'invecchiamento, ma soprattutto con una funzione preventiva.

# ***Metalloproteasi MMPs***


## ***ed anti Metalloproteasi TIMPs***


**Le Metalloproteasi (MMPs)** sono una famiglia di enzimi proteolitici, la cui funzione principale è di degradare le proteine, soprattutto della **matrice extracellulare**, come il collagene, la laminina, la fibronectina, l'elastina e la parte proteica dei proteoglicani. **Sono prodotte da tutte le cellule durante i processi di fisiologico rimodellamento dei tessuti.** Mentre alcune cellule producono le Metalloproteasi altre cellule producono i relativi inibitori, cioè delle **anti Metalloproteasi (TIMPs)**. Questi inibitori organizzano una sorta di muraglia che circonda l'area di azione delle Metalloproteasi. È quindi presente un **bilanciamento tra proteasi ed anti proteasi**, che serve a mantenere fisiologico questo processo di rimodellamento dei tessuti. Purtroppo numerose influenze possono scardinare questo equilibrio, in particolare i ROS prodotti in maniera eccessiva in caso di Stress ossidativo. Le Metalloproteasi sono attivate dai raggi ultravioletti o dall'infiammazione ed il loro meccanismo proteolitico richiede la presenza di ioni metallici come cofattori, principalmente zinco, talvolta cobalto. Hanno la funzione di governare la penetrazione dei linfociti nella zona di infiammazione attraverso la lamina basale dei capillari. Sono coinvolte nei processi patologici come le malattie degenerative e le malattie infiammatorie con attivazione linfocitaria, infine favoriscono la penetrazione delle cellule tumorali e quindi la progressione del tumore.


### **Azione dello stress ossidativo sul bilanciamento tra metallo proteasi ed anti metallo proteasi**

Stress ossidativo  Attivazione delle MMPs e Blocco delle TIMPs  Danno della matrice

### **Danni alla matrice extra cellulare**

ROS  Reticolazione del collagene e dell'elastina (rughe) e riduzione della capacità di rigenerazione

MMPs  Degradazione del collagene e inibizione della formazione di nuovo collagene

AGEs  Perdita di elasticità del tessuto connettivo, infiammazione, inibizione della proliferazione cellulare (sulla cute) con conseguente invecchiamento accelerato.

# Nitrosammine

Le proteine, una volta ingerite, vengono scomposte in aminoacidi ed assimilate dai villi intestinali. Se prima dell'assimilazione vengono aggredite da microrganismi come batteri o funghi possono subire una degradazione (decarbossilazione) con produzione di composti azotati chiamati **Ammine biogene**. Quelle derivate dall'Arginina sono la Putrescina, la Spermidina e la Spermina. Dall'Istidina deriva l'Istamina, dall'Ornitina deriva la Putrescina e dalla Lisina deriva la Cadaverina. La Tiramina dalla Tirosina, ma anche Adrenalina, Noradrenalina e Serotonina sono ammine biogene e importanti neuromediatori chimici.

Le ammine biogene sono quindi composti organici contenenti azoto e quando incontrano nitriti o nitrati, in ambiente acido, possono formare **le Nitrosammine**. Nell'ambiente acido dello stomaco i nitriti si trasformano in acido nitroso, che, con passaggi successivi, si lega all'azoto delle Ammine biogene formando quindi le Nitrosammine. Queste, accumulandosi nel corpo e legandosi al DNA ne provocano alterazioni, soprattutto della replicazione, **con effetto cancerogeno per la cellula**.

**Cosa sono i nitriti e i nitrati?** Sono molecole di azoto legate ad atomi di ossigeno  $\text{NO}_3 =$  nitrati,  $\text{NO}_2 =$  nitriti. In natura sono essenziali per la crescita dei vegetali, che li utilizzano assieme alla luce solare per sintetizzare le loro proteine. Nell'uomo però, soprattutto i nitriti, possono legarsi alle Ammine biogene dando le Nitrosamine e per questo motivo è consigliabile limitare l'uso. Nitrati e nitriti sono presenti soprattutto in alimenti vegetali come verdure provenienti da campi eccessivamente concimati o coltivate in serra. I Nitriti poi sono usati nell'industria alimentare per conservare ed allungare la data di scadenza dei cibi, perché impediscono ai batteri di aggredire le proteine, soprattutto nella conservazione dei salumi e degli insaccati. I nitriti si possono formare anche nella bocca per cattiva igiene orale e nell'intestino per disbiosi ad opera di batteri come E. coli, Proteus, Klebsiella, Enterococchi, Stafilococchi ecc. ecc. Nitriti e nitrati possono essere presenti anche nell'acqua che beviamo a causa della contaminazione della falda acquifera con concimi azotati o batteri.

Oltre al possibile effetto cancerogeno, le Nitrosammine danneggiano il globulo rosso. L'Emoglobina è formata da una parte proteica, la Globina, legata ad un gruppo non proteico, Eme, che contiene un atomo di ferro allo stato ferroso  $\text{Fe}^{2+}$  in grado di legarsi all'ossigeno. Se l'atomo di ferro viene ossidato dai nitriti e diventa ione ferrico  $\text{Fe}^{3+}$  non può più legarsi all'ossigeno, trasformando l'Emoglobina in Metaemoglobina, con conseguente ipossia.

I principali agenti con i quali l'organismo si difende dai Nitriti sono gli antiossidanti (Vitamina C, Vitamina E, Flavonoidi), che cedono elettroni alle molecole di Nitriti,  $\text{NO}_2$ , trasformandoli in Monossido di azoto (Ossido nitrico, NO), che non è in grado di legarsi alle ammine biogene.

Quindi una alimentazione con molta frutta e verdura e senza cibi con conservanti a base di nitriti è sempre da consigliare. Secondo l'AIRC (Associazione Italiana Ricerca sul Cancro) il consumo di insaccati con conservanti è una delle cause accertate di cancro allo stomaco. In Europa vi sono delle leggi che stabiliscono le dosi massime di nitriti e nitrati che possono venire aggiunte come additivi alimentari, nonché le dosi massime residue nei prodotti finali, ma, dati i rischi di salute pubblica, la via da seguire è la progressiva eliminazione, dato che esistono delle alternative per la conservazione.



## Polimorfismi genetici a singolo nucleotide

Il nostro DNA è una struttura formata da una sequenza di molecole chiamate nucleotidi, formate ciascuna dall'unione di uno zucchero a 5 atomi di carbonio, un gruppo fosfato ed una base azotata. Adenina e guanina sono basi azotate puriniche, citosina e timina sono basi azotate pirimidiniche. Le basi azotate dei singoli nucleotidi, si appaiano con quelle di un'altra sequenza in modo di comporre una struttura a doppia elica, secondo lo schema A-T e G-C, ossia l'adenina (A) con la timina (T) e la guanina (G) con la citosina (C).



I geni corrispondono a porzioni della sequenza di nucleotidi del genoma situate all'interno del DNA e contengono le informazioni necessarie per codificare proteine. Un **allele è una delle diverse forme in cui può presentarsi lo stesso gene** all'interno della medesima popolazione e fa parte del patrimonio ereditato dal padre e dalla madre. Ciascun gene è presente in ogni individuo con 2 alleli (uno ereditato dalla madre ed uno dal padre) che possono quindi essere uguali (omozigosi) o diversi (eterozigosi). Se l'espressione di un carattere dell'individuo richiede solo un allele, quel carattere è considerato dominante. Se l'espressione di un carattere dell'individuo richiede entrambi gli alleli, quel carattere è considerato recessivo. **Un allele è quindi una determinata sequenza di nucleotidi, che codifica la sintesi di una proteina, in un determinato punto della molecola di DNA.** Due alleli dello stesso gene possono essere uguali o differire per una sola coppia di basi oppure per diverse migliaia, e sono in grado di determinare il fenotipo. La maggior parte degli alleli osservati determinano un cambiamento minimo o nullo nella funzione della proteina codificata, tuttavia, a volte, alleli diversi dello stesso gene possono determinare fenotipi diversi riguardo la proteina codificata. Per fenotipo si intende ciò che è realmente l'individuo, mentre il genotipo è il corredo genetico in esso contenuto, con tutte le sue informazioni, molte delle quali però restano non espresse. Quindi solo una parte del genotipo partecipa alla formazione del fenotipo.

La possibile variazione di un solo nucleotide viene definita **polimorfismo a singolo nucleotide o "snp"** (single nucleotide polymorphism)

Con il termine di **Polimorfismo genetico** si intende quindi la presenza, nella popolazione di una specie, di più alleli di uno stesso gene che si presentano con una frequenza maggiore dell'1%. I Polimorfismi genetici possono essere dovuti alla mutazione, all'inserzione o alla delezione di tratti nella sequenza del DNA, fino al **cambiamento di un singolo nucleotide**, che può modificare la proteina codificata e di conseguenza, se si tratta per esempio di un enzima, potrebbe modificarne la funzione sia in senso migliorativo che peggiorativo. La presenza di mutazioni nella sequenza di nucleotidi del gene codificante può corrispondere quindi alla sostituzione di un aminoacido nella sequenza di una proteina, la quale a sua volta può comportare o meno la variazione funzionale di quella proteina. In base alla legge della selezione naturale, diversi Polimorfismi sono presenti contemporaneamente nella medesima popolazione, con frequenza anche alta, perché, in qualche modo, sono ugualmente vantaggiosi rispetto all'allele maggiormente presente. L'ambiente comunque influisce molto sulla diffusione di alcuni Polimorfismi perché, per esempio, sono vantaggiosi in certe aree geografiche in quanto rendono l'individuo più

resistente alle malattie endemiche locali. Altri Polimorfismi sono invece estremamente rari e spesso presenti in modo recessivo, manifestandosi quindi nel fenotipo solo se presenti in forma omozigote. Dal punto di vista della Medicina ambientale queste acquisizioni sono molto importanti per comprendere il diverso modo di reagire degli individui nei confronti degli inquinanti ambientali e dei farmaci. Disponendo di una mappa genetica con le caratteristiche degli alleli codificanti di un individuo riguardo un determinato carattere, per esempio la funzionalità di un enzima depurante o antiossidante, non solo è possibile comprendere, ma è possibile anche di predire quale sarà la risposta di quell'individuo nei confronti di una determinata terapia o di un inquinante ambientale.

Nel caso poi delle malattie multifattoriali, come ipertensione arteriosa, arteriosclerosi, malattie degenerative neurologiche, abortività ripetuta ecc. ecc. è possibile uno studio predittivo di incidenza, dedotto dalla somma dei geni che in qualche modo partecipano ai meccanismi etiopatogenetici conosciuti e correlati con la malattia in causa.

La scienza che si occupa di questo è la **Genomica** e noi siamo il frutto di una selezione operata in milioni di anni dall'ambiente.

Grazie al **sequenziamento del Genoma umano** è stato possibile avere una mappa della sequenza del DNA, che ha rivelato una variabilità individuale bassissima, 0,1% circa. Nell'ambito di questa variabilità una grossa parte è determinata proprio dai Polimorfismi a singolo nucleotide. Quindi è possibile richiedere ad un laboratorio specializzato la geno-tipizzazione di alcuni di questi polimorfismi in un determinato individuo, per studiare la sua predisposizione rispetto ad una patologia o ad una possibile alterazione biochimica o metabolica. Possiamo avere quindi un quadro dell'individuo completamente diverso da quanto fino ad oggi siamo abituati ad avere, che ci permette di cominciare a ragionare sull'interazione tra quel soggetto e l'alimentazione, lo stile di vita e l'ambiente dove vive e lavora. Ciò ci permetterà di comprendere se sia più o meno esposto a determinate patologie o di avere conferma dei meccanismi patogenetici delle patologie riscontrate.

In pratica questi laboratori, tramite un prelievo del sangue venoso o il brushing buccale, offrono un'ampia gamma di pannelli di polimorfismi da studiare (per esempio riguardo le malattie cardiovascolari, la facile abortività, le malattie neurodegenerative croniche). Per quanto riguarda le patologie strettamente correlate con l'inquinamento ambientale sono molto importanti i pannelli che riguardano soprattutto i geni degli enzimi in causa nello stress ossidativo, nella detossicazione cellulare e nell'infiammazione. Non è sempre facile la lettura dell'esame, ma generalmente viene rilasciato un referto con le conclusioni metaboliche, se il gene studiato risultasse alterato.

Non sarebbe corretto elencare i laboratori, dato che sicuramente finirei col fare un torto a chi doversi mancare di menzionare, però non posso non citare l'Azienda ospedaliera S. Andrea di Roma che, con il Laboratorio **DiMA** (Diagnostica Molecolare Avanzata) offre un'indagine genetica definita **D-MIFAR** molto ampia, che prende in considerazione i polimorfismi riguardanti moltissimi geni. L'esame è nato per valutare i farmaci più idonei da assumere in caso di necessità in base ai propri polimorfismi e si sta rivelando un presidio prezioso soprattutto per i pazienti affetti da **Sensibilità Chimica Multipla (MCS)**. L'80% circa di questi pazienti è portatore di importanti polimorfismi che riguardano la detossicazione e lo stress ossidativo, mentre solo il 20% della popolazione generale presenta polimorfismi ugualmente importanti. Poiché oggi l'incidenza della malattia viene valutata nel 2% circa della popolazione generale (considerando anche le forme più lievi), ancora una volta è importante ricordare che l'altro aspetto determinante, oltre la predisposizione genetica, è la presenza di alte concentrazioni di inquinanti nell'ambiente dove si vive e si lavora, oltre allo stile di vita (tipo di alimentazione, alcool, fumo, droghe ecc. ecc.). Purtroppo anche il sesso sembra un fattore predisponente importante, dato che le donne sono statisticamente più esposte alla MCS in quanto i sistemi di depurazione sarebbero sovraccaricati dal metabolismo degli estrogeni (teoria più accreditata). Assieme all'indagine genetica **D-MIFAR** si può

richiedere privatamente il **C-MIFAR**, una consulenza particolareggiata da parte di uno specialista del reparto, riguardo i farmaci tollerati e quelli da evitare in base ai polimorfismi presentati.

Restando nell'ambito dello studio delle patologie ambientali è utile valutare i polimorfismi che riguardano gli enzimi deputati alle reazioni di detossicazione ed antiossidanti, perché permettono di capire come un individuo risponderà all'esposizione di sostanze xenobiotiche come metalli pesanti, pesticidi, solventi, farmaci ecc. ecc. o all'aggressione di germi patogeni. Viene definito **allele Wild Type** quello normalmente presente nel genotipo della maggioranza della popolazione, mentre viene definito **allele mutato** quello differente e che può determinare quindi una variazione del fenotipo. Si avranno così individui con entrambi gli alleli normali indicati come wt/wt = wild type, individui con 1 allele wt ed uno mutato, ed individui con entrambi gli alleli mutati. L'allele mutato può quindi determinare un modo di reagire diverso rispetto alle sostanze ambientali ed ai farmaci, un modo di reagire che può essere svantaggioso o vantaggioso. In pratica vengono studiati i geni, ciascuno dei quali è classificato con una sigla che racchiude l'abbreviazione della proteina codificata ed ulteriori elementi di classificazione che ne identificano la sede all'interno dei cromosomi. Nel referto del laboratorio, per definire una mutazione a carico di un singolo nucleotide, vengono riportate le iniziali della coppia di basi azotate modificate. Ad esempio, se le sequenze individuate tra l'allele Wild Type e quello dell'individuo studiato sono AGACCTAA e AGACTTAA, è presente un polimorfismo a singolo nucleotide che differenzia i due alleli C e T e sarà indicato come C/T se eterozigote o T/T se omozigote, cioè se la mutazione è presente in entrambi gli alleli dell'individuo. Di solito il laboratorio aggiunge, nei casi di gene mutato, una breve nota di spiegazione delle conseguenze che la mutazione comporta in base a quanto conosciuto dalla letteratura in materia.

Quindi i polimorfismi più importanti nell'ambito della medicina ambientale sono quelli relativi agli enzimi di biotrasformazione di Fase I e Fase II.

In particolare per la fase I sono studiati alcuni polimorfismi appartenenti alla famiglia del Citocromo P-450 come il P450 1A1 (CYP1A1), che è un enzima che partecipa alla detossificazione epatica di numerose sostanze xenobiotiche, come gli idrocarburi policiclici aromatici, oltre al metabolismo di molti importanti farmaci. Anche CYP1A2 partecipa alla detossificazione epatica di numerose sostanze xenobiotiche, di farmaci e della caffeina. Altri polimorfismi relativi ai componenti della famiglia del Citocromo P-450 sono il CYP2D6 (con diverse varianti che possono aumentare o diminuire l'attività enzimatica rispetto ad alcuni farmaci come il destrometorfano), il CYP2C9 (responsabile della resistenza al Warfarin), il CYP2C19 (responsabile del metabolismo del Clopidogrel), il CYP3A5.

I polimorfismi relativi ad enzimi di fase II sono i più studiati perché relativi ad enzimi detossicanti ed antiossidanti ed ogni laboratorio ha un pannello relativo a questo elenco di geni. Oltre ai polimorfismi relativi al Glutatione già ricordati nel relativo capitolo (GSTM1, GSTP1, GSTT1, GPX1) troviamo altri polimorfismi relativi allo stress ossidativo ed alla detossificazione: PON1, CAT, SOD2, NAT2, UGT1A1.

Sono poi presenti pannelli relativi ai polimorfismi di geni coinvolti nei meccanismi dell'infiammazione:

IL1 $\alpha$ -889; IL1 $\beta$ +3953, TNF $\alpha$ -308, IL1RA+2018.

Importante anche il pannello relativo al ciclo della Omocisteina e delle metilazioni (vedi il capitolo relativo):

CBS C699T, CBS T1080C, MTHFR A1298C, MTHFR C677T, MTR A2756G, MTRR A66G, TCN2 (776C/G).

Spesso studiati sono anche i polimorfismi dei geni relativi al metabolismo della serotonina: 5-HTT (trasportatore della Serotonina) e TPH (Tryptofano idrossilasi)

Delle catecolamine: COMT (catecolortometiltransferasi)

Del metabolismo dei solfiti: Il gene SUOX è coinvolto nella attività di detossificazione dei solfiti assieme al gene CBS (già considerato nel ciclo della Omocisteina)

Del metabolismo dell'Ossido Nitrico: Ossido Nitrico sintetasi endoteliale (eNOS): polimorfismi -786 T>C, Glu298Asp e VNTR introne 4.

## Generalità

I termini Microbiota e Microbioma vengono spesso usati indifferentemente. Microbiota corrisponde a tutti i microrganismi presenti in un essere umano o vegetale. Microbioma è il patrimonio genetico complessivo della popolazione di microrganismi e con questo termine si intende anche la sua interazione con l'ospite. Comunemente indichiamo con Microbiota la massa di microrganismi presenti nel nostro intestino, ma il termine comprende tutti i germi presenti nel nostro corpo (Microbiota della pelle, vaginale, del canale digerente ecc. ecc.) con eccezione del sistema circolatorio sanguigno. Tutti questi microrganismi vivono in simbiosi con l'ospite e possiedono un patrimonio genetico ricchissimo formato da geni indispensabili per la vita dell'ospite, per esempio enzimi per la digestione di sostanze altrimenti non digeribili. **Il genoma dei microrganismi può essere quindi considerato un secondo genoma che si somma al primo, quello umano**, e lo accompagna per tutta la vita. Il Microbiota intestinale è formato da circa 1,5 kg di batteri e da altri microrganismi che vivono nel nostro intestino formando un **Ecosistema** in cui la vita tra le varie specie presenti è correlata ed è parimenti correlata con l'ospite. I rapporti tra le varie specie possono essere di commensalismo o di simbiosi:

**Commensalismo** tra due microrganismi: uno approfitta degli scarti o del nutrimento dell'altro senza recarsi danno.

**Simbiosi**: associazione stretta tra i microrganismi dalla quale tutti traggono un vantaggio reciproco.

L'**omeostasi** dell'ecosistema intestinale dipende da molti fattori, alcuni dipendono dai germi altri dall'organismo ospite.

### Fattori che dipendono dai germi:

Velocità di riproduzione, tasso di mortalità, quantità espulsa con le feci, quantità assunta con gli alimenti, produzione di acido lattico e perossido di idrogeno, produzione di sostanze tossiche per le altre specie batteriche, sintesi di **Batteriocine**. I batteri competono tra loro sia per nutrienti che per spazio e da ciò dipende la densità batterica e la comunicazione intercellulare. In questa competizione entrano in gioco vari fattori come la produzione di Batteriocine prodotte dai batteri lattici. Sono proteine a basso peso molecolare con effetto battericida o batteriostatico e sono innocue per l'uomo perché degradate dalle proteasi. A differenza degli antibiotici che sono ad ampio spettro, hanno uno spettro molto limitato a ceppi della stessa specie o a ceppi di specie filologicamente correlate. Sono sicuramente prodotte dai lattobacilli, forse anche dai Bifido batteri ed agiscono con vari meccanismi.

### Fattori che dipendono dall'organismo:

Secrezione gastrica, motilità intestinale, secrezione biliare e pancreatica, immunità locale, utilizzo di antibiotici (diretto o indirettamente con il cibo), tipo di alimentazione, strato di muco che riveste l'intestino.

### Come si forma il Microbiota intestinale?

Nell'utero materno il feto vive una condizione di quasi sterilità e la formazione del suo Microbiota varia a seconda di vari fattori.

- ❖ **La modalità del parto.** Se il parto è naturale riceve germi vaginali e fecali quando passa attraverso il canale del parto. Sono perlopiù germi acidofili provenienti dalla vagina della madre. Se il parto è cesareo invece il patrimonio di germi con il quale verrà incontro il neonato è completamente

differente. Per questo motivo si va diffondendo l'uso tra i ginecologi di passare una salvietta nella vagina della madre sul volto e sul corpo del neonato dopo un parto cesareo.

- ❖ **L'allattamento.** Se al seno materno il neonato riceve Bifido batteri, che durante la gravidanza proliferano nei dotti galattofori materni. Nell'allattamento artificiale sono presenti solo germi ambientali.

Col tempo il Microbiota si stabilizza fino ad assimilarsi a quello di un adulto dopo i 36 mesi. L'uso di antibiotici naturalmente può depauperizzare e mutare la flora batterica. Nella regione appendicolare persistono comunque delle riserve dei principali ceppi che possono ricolonizzare l'intestino. il Microbiota continua comunque a mutare tutta la vita in funzione dei fattori già precedentemente elencati. Dopo i quarant'anni e comunque in età avanzata, dopo i 60 anni, va incontro ad una involuzione impoverendosi soprattutto riguardo la Biodiversità. Sembra che chi nasca con parto cesareo sia più predisposto all'obesità ed il Microbiota delle persone obese è diverso da quello delle persone magre. Uno dei fattori più importanti del Microbiota è dunque la **Biodiversità**, cioè la varietà di microrganismi dei quali è composto. Più è differenziato e più è in grado di far fronte alle patologie intestinali. C'è una nuova branca di studio che misura la biodiversità e l'unità di misura è l'indice di Simpson. Un altro fattore importante è la **permeabilità della parete intestinale**. Un certo grado di permeabilità, sia attiva che passiva, è fisiologica e localizzata soprattutto nell'intestino tenue dove avviene la gran parte dell'assimilazione degli alimenti ad opera dei succhi biliari e degli enzimi pancreatici. Molte patologie però, dalle più banali come una gastroenterite, alle più complesse come la Celiachia, il Morbo di Chron, la Colite ulcerosa, le Allergie alimentari o a sostanze presenti negli alimenti come per esempio il Nichel, vari farmaci come gli antibiotici o gli inibitori di pompa e varie situazioni metaboliche possono provocare infiammazione della parete ed alterare la permeabilità con conseguenze su altri organi, apparentemente non collegate con l'intestino. Una delle più recenti acquisizioni è a dir poco stupefacente: se da bambini subiamo esperienze particolarmente avverse o malattie infiammatorie intestinali, ciò spingerebbe il nostro organismo ad attivare il sistema immunitario, che è il nostro sistema principale di difesa contro ciò che è esterno a noi. Ne consegue uno stato di infiammazione della parete intestinale con un nuovo adattamento tra parete e Microbiota, con selezione quindi anche dei germi del Microbiota, in funzione dei vantaggi che possono apportare in questa situazione di allarme persistente. Questo adattamento tra parete e Microbiota con una esaltata propensione verso l'infiammazione viene chiamato **Adattoma** e deriva dalla forte e stretta relazione tra microrganismi e sistema immunitario. Nel tempo la situazione si può normalizzare, se non sopravvengono altre cause di stress, ma, in occasione di situazioni intestinali patogene o di situazioni avverse, la reazione immunitaria di quell'individuo sarà sempre più forte, talvolta esagerata, rispetto ad individui senza problemi infantili. Situazioni invece di stress persistenti possono scatenare una infiammazione persistente e malattie autoimmunitarie come la Colite ulcerosa o il morbo di Crohn (questa è la teoria).

## ***Apparato digerente e Microbiota***

Alcuni numeri per comprendere le dimensioni del sistema digerente: la superficie di scambio polmonare è di 200 m<sup>2</sup> mentre la superficie di scambio gastrointestinale è di 400 m<sup>2</sup>.

**Tempi di svuotamento:** l'esofago 10 secondi, lo stomaco tre ore, l'intestino tenue 7 ore, il colon e retto anche oltre 30 ore.

**Caratteristiche dell'epitelio del colon:** è rivestito da un gel mucoso. Lo strato più interno del muco, quello a contatto con l'epitelio è idrosolubile, mentre lo strato esterno sovrapposto è più vischioso e formato da muco, batteri e sostanze varie. Il muco è prodotto dalle cellule globose dell'intestino con funzione protettiva ed è formato da polimeri della mucina, lunghe catene polipeptidiche glucosate. I polisaccaridi

che formano questo gel sono i nutrienti della microflora. La varietà di muco è specifica per ogni individuo, geneticamente determinata e ne determina anche la resistenza alle infezioni.

Il cibo viene elaborato nell'intestino tenue ad opera dei Sali biliari e degli enzimi digestivi e qui vengono assorbite le sostanze assimilabili. Dopo il transito nell'intestino tenue, attraverso la valvola ileocecale, il cibo giunge nell'intestino crasso dove è presente sostanzialmente tutto il Microbiota intestinale (in realtà ogni porzione del tratto digerente ha la sua piccola quota di batteri). Nel Colon circa il 95% dei Batteri sono anaerobi ed il 5% sono aerobi.

Il 67% sono rappresentati da 2 grandi specie batteriche: **I Bacteroides ed i Firmicutes.**

**I Bacteroides**, se prevalgono, di solito caratterizzano un individuo magro, con minore infiammazione intestinale. Sono strettamente correlati con il sistema immunitario dell'intestino al quale forniscono informazioni ed infine scompongono la fibra con la produzione di acidi grassi a catena corta, soprattutto l'Acido butirrico.

**I Firmicutes** aiutano la digestione dei grassi ed aumentano la quota calorica assorbita con la dieta, proprio in virtù della maggiore digestione ed assimilazione dei cibi grassi. È più facile quindi rilevare la prevalenza di Firmicutes in soggetti grassi, anzi alcuni esperimenti sui topi (trapianto di feci) hanno dimostrato che sarebbero la causa dell'obesità almeno in alcune persone non rispondenti alla dieta. Di solito sono aumentati a causa della dieta occidentale (opposta la dieta mediterranea) con alto introito di zuccheri e grassi.

Nel Microbiota ci sono poi circa un 15% di **Bifidobatteri** un 2% di **Lattobacilli** un 5% di **Escherichia coli ed Enterococchi** ed un 13% di **Clostridi, Proteus e Klebsiella.**

**I Bifidobatteri** sono numerosi nei neonati, soprattutto se allattati al seno. Essi svolgono un ruolo chiave nello sviluppo del sistema immunitario e delle capacità digestive del bambino. Sono importanti perché prevengono i batteri patogeni e partecipano alla scomposizione della fibra.

**I Lactobacilli**, pur non essendo una quota rilevante, sono molto importanti perché proteggono l'intestino dai batteri patogeni e dalla Candida attraverso la produzione di  $H_2O_2$  nociva per quei germi. Sono però molto sensibili alla terapia antibiotica che ne determina il calo e di conseguenza un aumento della Candida.

## ***Concetti importanti da tenere sempre presenti riguardo il Microbiota***

Bisogna considerare il **Microbiota come un organo vero e proprio** a causa delle sue molteplici interazioni con l'intestino e, attraverso l'intestino, con tutto il corpo, Sistema Nervoso Centrale compreso. il Microbiota è in simbiosi con la parete intestinale.

**L'intestino è il nostro secondo cervello**, il primo se consideriamo la scala evolutiva. Ha quindi un complesso Sistema Nervoso Viscerale e comunica con il cervello attraverso il nervo vago e attraverso sostanze chimiche che sono veri ormoni e neurotrasmettitori, messi in circolo dopo l'assorbimento intestinale. Molte di queste sostanze sono prodotte direttamente dal Microbiota o sono prodotte da sostanze assorbite tramite il Microbiota, quindi il Microbiota comunica in vario modo con il sistema nervoso centrale.

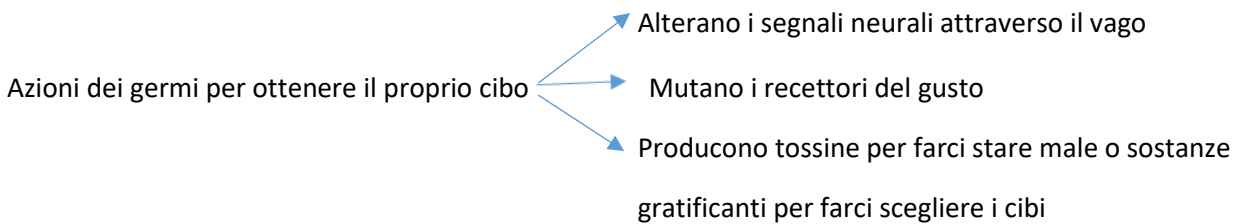
**Sistema nervoso viscerale intestinale** → Nervo Vago → **Sistema nervoso centrale**

**Microbiota** → Produzione di ormoni e neurotrasmettitori → immissione nella circolazione

sanguigna

Esempi: la Dopamina è un neurotrasmettitore chiamato anche “ormone del benessere” ed è prodotto in grande quantità dai germi intestinali. Domanda: viene prodotto come ricompensa per gratificare l’ospite ed ottenere ancora substrato? Cioè perché voglio un’altra fetta di torta? Altre sostanze chimiche prodotte dai microbi sono la Serotonina (dal Triptofano), che agisce sul tono dell’umore, il GABA che è un neurotrasmettitore anti ansia e molte sostanze simili ad ormoni e regolatori della fame. Alla base di tutto ciò c’è la continua competizione tra le varie specie di germi che, nutrendosi di sostanze diverse, hanno metabolismi ed esigenze diverse, che devono soddisfare per sopravvivere. La differenza è soprattutto tra i germi che si nutrono di zuccheri e che hanno una fortissima richiesta, verso quelli che si nutrono di grassi.

**In un certo senso quindi il Microbiota è in grado di manipolare sia Quanto mangiamo che Cosa mangiamo.**



Il Microbiota metabolizza molte sostanze e partecipa alla digestione del cibo.

**Nutre la parete intestinale metabolizzando la fibra ed i polisaccaridi che resistono all’idrolisi dei succhi pancreatici, producendo degli acidi grassi a catena corta, soprattutto l’Acido butirrico, che sono il nutrimento della parete intestinale.** La stipsi degli anziani è spesso correlata alla involuzione del Microbiota ed alla mancanza di fibra, con una forte riduzione dell’Acido butirrico.

**L’azione dell’Acido butirrico** si esplica soprattutto nel colon discendente mentre invece la **Glutamina** agisce soprattutto nel colon ascendente.

**Più il Microbiota è diversificato, cioè più e ricco di specie differenti, più in grado di mantenere una omeostasi sana** cioè di difendersi dalla intrusione dei patogeni ed è ricco di geni capace di produrre enzimi che metabolizzano più sostanze.

**I principali fattori della dieta che determinano selezione batterica** sono la presenza o l’assenza di fibra alimentare e la presenza o assenza di carne e latticini.

**Il Microbiota produce vitamine** cioè sostanze indispensabili all’organismo umano che non è in grado di produrre: Vitamina K2 e Vitamine del gruppo B come Biotina, Cobalamina, Acido folico, Acido nicotinico, Acido pantotenico, Riboflavina e Tiamina.

**Il Microbiota promuove l’assorbimento di Ferro, Calcio e Magnesio.**

**Il Microbiota interagisce in maniera strettissima fin dall’infanzia con il sistema immunitario.** Il sistema immunitario intestinale denominato GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) è formato dalle Placche di Peyer e dai Follicoli linfoidi isolati. Quando nasciamo abbiamo meccanismi innati con i quali il sistema immunitario inizia a difendere l’organismo, ma per il resto è un sistema vergine e quindi deve imparare a difendersi. La prima cosa che deve fare, per sopravvivere, è imparare a distinguere tra ciò che è nocivo e ciò che è indispensabile e ciò viene attraverso il contatto con il mondo circostante. Questo contatto è sempre mediato dal Microbiota (di tutti i tessuti, in particolare quello intestinale). Purtroppo nei millenni di evoluzione il nostro Microbiota si è impoverito, sia per scelte alimentari che per l’inquinamento ambientale e questo rende più difficile l’apprendimento, perché nell’intestino ci sono meno germi “maestri” o “amici” che gli sottopongono le varie sostanze. Succede sempre più spesso che in alcuni individui, probabilmente geneticamente predisposti o epigeneticamente condizionati, il “self” cioè tutto ciò che entra a pieno titolo a comporre l’individuo non venga correttamente riconosciuto e invece sia



scambiato per “non self”, estraneo e quindi dannoso, da eliminare e quindi attaccato con tutti i meccanismi innati frutto dell’evoluzione. Alle alterazioni del Microbiota sono imputati l’aumento delle malattie allergiche e l’obesità, entrambe maggiormente presenti nei bambini nati con parto cesareo e quindi con un Microbiota diverso. Anche l’allattamento artificiale influenzerebbe molto la situazione, soprattutto riguardo le allergie. Il fatto che il Microbiota tipico di un individuo non venga attaccato dal sistema immunitario vuol dire che le informazioni che passa alla parete intestinale sono tali da farlo riconoscere come “self”. Tra parete intestinale e Microbiota si stabilisce una comunicazione bidirezionale, una sorta di Network di notizie condivise, come avviene tra le cellule di uno stesso tessuto. L’Ecosistema che si instaura protegge la parete, soprattutto l’endotelio, dalle noxae nocive. Se però, e ciò avviene sempre, si introduce qualche sostanza nociva o germe patogeno la popolazione del Microbiota, con le sue modificazioni conseguenti all’arrivo della noxa patogena, manda delle informazioni alla parete intestinale, che reagisce con i meccanismi dell’infiammazione. L’infiammazione in sé, a livello intestinale, non è una malattia, ma è uno dei meccanismi con i quali l’Ecosistema cerca di riequilibrarsi, **ma se concorrono varie cause che aggravano o mantengono l’infiammazione allora incominciano i problemi: viene meno l’integrità dell’endotelio e della parete intestinale** (sindrome dell’intestino permeabile) e la capacità del sistema immunitario di identificare le strutture “self” e “non self” con la penetrazione di sostanze che altrimenti non avrebbero permeato la parete. Ciò porta a reazioni incrociate allergiche verso sostanze presenti nell’organismo, di solito macro molecole, altre volte è però il sistema Immunitario che reagisce in maniera sbagliata per alterazioni genetiche o indotte dall’ambiente (epigenetiche). Restano molte ricerche da fare perché ci sono fatti non facilmente spiegabili, per esempio non è sempre chiaro quando dei comuni germi intestinali diventino patogeni. Ci sono popoli con batteri intestinali inoffensivi per loro ma che invece determinano malattie con infiammazioni intestinali in altre popolazioni. L’unica cosa che possiamo supporre è che tutto sia regolato dalla relazione che si stabilisce tra il Microbiota e la parete intestinale e ciò è condizionato dalla ricchezza del Genoma complessivo di un Microbiota, cioè dalla ricchezza nella Biodiversità. Per esempio il Genoma può modificare l’assorbimento dei farmaci: il paracetamolo è generalmente epatotossico ma se nel Genoma sono presenti geni che favoriscono i batteri capaci di metabolizzare i solfani ciò non avviene. Nell’intestino tenue di solito la colonizzazione batterica è soppressa dalla veloce peristalsi e dalla presenza di enzimi pancreatici e sali biliari. Sono comunque presenti dei batteri nella parte distale dell’ileo in scarsa quantità. La maggiore concentrazione batterica è nel colon. Sono batteri anaerobi, difficilmente coltivabili in laboratorio. Il loro riconoscimento è possibile grazie all’esame del **Sequenziamento Genomico**: si cerca cioè il gene che codifica l’rRNA 16 S (RNA ribosomiale) che è presente in tutti i batteri ma è geneticamente diverso in ciascuna specie (**test del Microbiota**).

## ***Microbiota PH intestinale ed Acido butirrico***

L’ambiente del colon è povero di zuccheri semplici, già assorbiti nel tenue come mono e disaccaridi, mentre sono presenti polisaccaridi (es. foglie e semi) che resistono all’idrolisi degli enzimi pancreatici, come amido, inulina, e FOS (frutto oligosaccaridi), oligosaccaridi della soia, pectine, gomme, mucillagini. Sono presenti poi grassi e proteine. Nel colon prossimale (cieco, appendice, flessura epatica e colon trasverso), grazie all’alta presenza di substrato glucidico, prevalgono i batteri saccarolitici, cioè utilizzatori di zuccheri ed il PH è di 5-6. Vi è anche una rapida crescita batterica. La parete intestinale è stimolata per quanto riguarda motilità e nutrimento dalla **Glutamina** prodotta dal Microbiota. Nel colon distale (flessura splenica, colon discendente, sigma e retto) è presente poco substrato glucidico, mentre è particolarmente presente quello proteico, prevalgono quindi i batteri proteolitici ed il PH è neutro 7, mentre la crescita batterica è scarsa. Il nutrimento e la motilità della parete intestinale di questa parte del colon dipende principalmente dall’**Acido butirrico** (acido grasso a catena corta prodotto, con l’acido

acetico e quello propionico, dalla fermentazione dei carboidrati ad opera dei Bifidobatteri e dei Lactobacilli) la cui carenza determina atrofia della mucosa. L'Acido butirrico è metabolizzato dall'epitelio del colon e regola l'accrescimento e la differenziazione cellulare. Ha inoltre un'azione protettiva sulla mucosa del colon verso il cancro, perché previene la degradazione del DNA, più facile per senilità e dieta con troppa carne o altre sostanze. Inibisce poi la crescita di batteri aerobi e/o patogeni come la Salmonella. Abbassa il PH cioè acidifica e favorisce la riparazione delle cellule endoteliali. Migliora i sintomi del morbo di Crohn, della Colite ulcerosa e della Celiachia ed è anche utile per il riassorbimento di acqua e sodio. Infine favorisce un'adeguata produzione di Citochine. Dal butirrato i batteri producono il **GABA (acido gamma amino butirrico)**, che è un neurotrasmettitore che può agire anche a livello cerebrale, mentre a livello locale migliora la peristalsi ed ha un'azione antiinfiammatoria, che previene l'invecchiamento dell'endotelio.

Avanzando nel colon si riscontrano quindi una diminuzione dei carboidrati, un aumento del residuo proteico, un aumento dei batteri produttori di proteasi e del PH. Le feci hanno un PH leggermente alcalino, fino a 8, nella parte finale dell'intestino crasso.

I processi putrefattivi operati dai batteri produttori di proteasi come Clostridi, Bacteroides e Peptococchi portano alla formazione di:

- ancora acidi grassi a catena corta (acido butirrico, propionico ed acetico)
  - **Metaboliti tossici** che devono essere smaltiti dal fegato per non danneggiare il SNC
- Ammoniaca e Solfuro di idrogeno che possono alterare il DNA cellulare aumentando il rischio cancerogeno
- Formazione di Ammine biogene. Agmatina e Cadaverina dagli aminoacidi Arginina e Lisina. Mercaptano ed Istamina da Cistina ed Istidina. Tiramina dalla Tirosina
- Formazione di composti fenolici come Indolo e Scatolo, potenzialmente cancerogeni.

## ***Il Microbiota e la fibra alimentare***

Per definizione la fibra alimentare è "la componente dietetica resistente alla degradazione degli enzimi digestivi" dal punto di vista chimico è "la somma dei polisaccaridi di origine non amidacee e della lignina". In pratica **la fibra vegetale alimentare è costituita sempre da carboidrati che resistono alla digestione enzimatica intestinale e solo in parte sono fermentati dalla flora batterica intestinale** e poi assorbiti, ma in genere non viene considerata importante dal punto di vista calorico.

Solitamente viene classificata in due categorie: la fibra insolubile e la fibra solubile. La fibra insolubile, principalmente lignina e cellulosa, non viene digerita, richiama acqua nel lume intestinale e migliora la stipsi perché aumenta la peristalsi accelerando il transito. La fibra solubile, costituita da gomme, mucillagini pectine, galattomannani, inulina e FOS, è caratterizzata da una notevole idrofilia, lega quindi le molecole dell'acqua formando un gel che aderisce alla mucosa intestinale. Viene fermentata dalla flora batterica, ma solo per quanto riguarda la sua frazione fermentabile.

Le principali proprietà della fibra sono le seguenti:

- rallenta lo svuotamento gastrico con conseguente senso di sazietà.
- riduce sia l'assorbimento che la produzione di colesterolo

- favorisce il controllo della stipsi cronica, soprattutto atonica, con vari meccanismi come la produzione dell'acido butirrico di cui si è già parlato e l'aumento della massa e della viscosità delle feci.
- rallenta l'assorbimento di alcune sostanze e ciò può essere di aiuto in alcune situazioni: per esempio è di aiuto a chi ha problemi metabolici come i diabetici, perché rallenta l'assorbimento del glucosio riducendo quindi il picco di insulina.
- riduce il rischio di tumori intestinali con vari meccanismi: produce acidi grassi a catena corta, soprattutto il butirrico, che prevengono sia l'invecchiamento endoteliale che la degradazione del DNA ed inoltre mantiene costante il PH impedendo i germi nocivi di stabilirsi e di produrre tossine cancerogene.

## ***Prebiotici Probiotici Postbiotici***

**I prebiotici** sono ingredienti che possono essere fermentati in modo selettivo, determinando quindi dei cambiamenti specifici del Microbiota, conferendo quindi un beneficio alla salute dell'ospite.

**I probiotici** sono microrganismi vivi, che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite.

**I postbiotici** sono i metaboliti dei batteri probiotici.

Tutti i prebiotici sono fibre, ma non tutte le fibre sono prebiotiche, perché devono resistere all'acidità gastrica, devono essere fermentabili dalla microflora intestinale e devono stimolare la crescita di batteri potenzialmente associati alla salute dell'ospite. Generalmente i prebiotici hanno la tendenza di ridurre il PH, aumentare gli acidi grassi a catena corta, ridurre la colesterolemia ed aumentare i Bifidobatteri. Vengono usati soprattutto per la riduzione delle infezioni intestinali, per la riduzione del rischio di Obesità, Diabete di tipo 2 e Sindrome metabolica, per la riduzione e il miglioramento della IBD e per la riduzione del rischio dei tumori del colon. Le principali fibre prebiotiche usate sono l'Inulina, i FOS e le mucillagini.

## ***Microbiota e senescenza***

Invecchiando l'organismo cambia: di solito c'è un calo della massa magra ed un aumento della massa grassa, compaiono difficoltà di digestione e riduzione anche della massa scheletrica. Nell'età più avanzata compare anche la sindrome da fragilità, cioè la riduzione delle riserve energetiche e della resistenza allo stress, dovuto a diverse cause (biologiche, chimiche, fisiche, psicologiche e sociali). Tutti gli organi si avviano ad un declino generalizzato che chiamiamo vecchiaia. Il Microbiota muta durante la vita, soprattutto dopo i 60 anni, per riduzione della Biodiversità dei germi che lo compongono. Dopo i 90 anni invece troviamo individui con un Microbiota caratterizzato dall'aumento della Biodiversità ed è quindi probabile che appunto nella Biodiversità ci siano dei fattori di protezione intestinale, che portano ad una maggiore salute e longevità.

Nell'anziano, oltre alla diminuzione della Biodiversità dei germi del Microbiota, abbiamo anche un cambiamento delle specie dominanti con una variazione dal metabolismo saccarolitico a quello proteolitico, che porta ad un aumento delle specie aerobiche facoltative. C'è una riduzione dei microrganismi benefici ed un aumento dei potenziali patogeni. Il risultato è una riduzione delle specie produttrici di acidi grassi a catena corta (Acido butirrico), con possibile comparsa di atonia della parete e stipsi. C'è un aumento della permeabilità intestinale con possibile passaggio di tossine e germi e ciò altera

la comunicazione intestino-cervello, favorendo l'infiammazione che, partendo dalla parete intestinale con la produzione di citochine, si estende a tutto l'organismo ed al Sistema Nervoso Centrale.

**Invecchiamento** ➡ **infiammazione sistemica cronica di basso grado** ➡ **neuroinfiammazione cerebrale**

C'è l'ipotesi, avallata da lavori sperimentali sui topi, che alcune sostanze prodotte dalla flora intestinale possano invertire questo processo, in particolare l'Acido butirrico, che agirebbe soprattutto sulla Microglia, che nella senescenza si orienta verso un fenotipo pro infiammatorio (fattori epigenetici che influenzano l'invecchiamento?). Gli acidi grassi a catena corta forse agiscono come inibitori dell'istone deacetilasi, con effetto antinfiammatorio e miglioramento della memoria. Nella popolazione anziana migliorano anche il sintomo stanchezza ed i parametri di fragilità (Handgrip). Nell'anziano quindi la dieta ricca di fibre è uno strumento per migliorare l'asse intestino-cervello.

## La Disbiosi intestinale

La Disbiosi intestinale consiste nello squilibrio tra i gruppi batterici della flora intestinale, che determina disturbi funzionali che possono trasformarsi in malattie, con sintomi come disturbi digestivi, gonfiore e dolori addominali e con la possibile ripercussione su tutti gli organi. A seconda del gruppo di batteri che prendono il sopravvento abbiamo **due tipi diversi di Disbiosi**.

- ❖ **La Disbiosi fermentativa per accentuata flora batterica di tipo saccarolitico.** Aumentano le specie Enterobatteriacee, i Lattobacilli, i Bifido batteri, gli Streptococchi, mentre diminuiscono i Bacteroides e i Clostridi. È caratterizzata da gonfiore addominale, flatulenza non particolarmente maleodorante e diarrea alternata a stipsi. È spesso dovuta ad una dieta con apporto eccessivo di carboidrati (pane e pasta). Una forma particolarmente grave della Disbiosi fermentativa è la malattia SIBO (small intestinal bacterial overgrowth, sindrome da contaminazione batterica dell'intestino tenue). È dovuta all'invasione del tenue da parte di batteri dal colon. Di solito nel tenue c'è solo una debole presenza batterica. L'invasione del tenue anche da parte di flora batterica proteolitica provoca gonfiore e fermentazioni dolorose alla parte destra dell'addome. La flora proteolitica poi provoca anche la formazione di Ammine biogene che derivano dalla degradazione di certi aminoacidi e che provocano l'attivazione del sistema immunitario, con infiammazione della parete e penetrazione nel sangue delle ammine, dell'Istamina e di particelle di cibo. Queste molecole provenienti dai vari cibi provocano una reazione immunitaria con produzione di Ig E e così si può diventare allergici o intolleranti a cibi prima ben tollerati. Normalmente l'Istamina, derivata dalla degradazione dell'istidina, o liberata dalla reazione infiammatoria, viene degradata dalla DAO, diaminoossidasi, presente nell'epitelio endoteliale (o dalla n-metiltransferasi), prima di entrare nel sangue. Se ci sono cause congenite genetiche di deprivazione della DAO, o il danneggiamento dell'epitelio intestinale dovuto all'infiammazione o l'inibizione della DAO da parte di alcuni farmaci, tutti questi motivi possono favorire l'assorbimento dell'Istamina con i sintomi della cosiddetta **Sindrome sgombroide**: la comparsa acuta ed improvvisa durante la digestione di cefalea, prurito, rush cutanei al collo ed al volto, disturbi respiratori, tachicardia.
- ❖ **La Disbiosi putrefattiva** è invece dovuta ad una dieta ricca di grassi e carne, non bilanciata da un adeguato apporto di fibre. La mancanza di fibra non digeribile porta ad un aumento dei Bacteroides, della flora proteolitica e dei fenomeni putrefattivi, con feci molto maleodoranti. Altri sintomi sono il gonfiore, i dolori e la flatulenza, con maggiore localizzazione al fianco sinistro, riducendosi la flora saccarolitica. C'è anche una riduzione della tolleranza al glucosio.

I sintomi classici della Disbiosi sono il meteorismo, la flatulenza, le alterazioni dell'alvo con diarrea e stipsi, tenesmo, crampi, evacuazione urgente con muco fecale ed intolleranza ad alcuni cibi. Oltre ai sintomi locali intestinali, in corso di Disbiosi intestinale si possono presentare, per tutti i vari meccanismi già

elencati, molti sintomi sistemici come cefalea, nervosismo, ansia, depressione, alitosi, riniti, dermatiti, eczemi, stanchezza cronica, dolori articolari, invecchiamento della pelle, caduta delle difese immunitarie.

La Disbiosi può essere causata da molte cause come le diete sbagliate, perché molto sbilanciate, l'uso di farmaci come antibiotici, inibitori di pompa, cortisonici, ma vi sono anche **stressors intestinali ai quali raramente si pensa: agenti fisici come le radiazioni elettromagnetiche, agenti chimici come i pesticidi, additivi, conservanti, metalli pesanti ed altre sostanze tossiche alimentari, agenti biologici come i microrganismi patogeni o commensali diversi dalla solita flora batterica (viaggi e cambio di clima)**. La Biodiversità di un Microbiota di solito, se accentuata, lo rende più resistente agli stressors.

## ***Parete intestinale ed infiammazione***

Abbiamo visto che la parete intestinale reagisce con l'infiammazione a tutti gli attacchi, chimici, fisici e biologici ed un certo grado di infiammazione deve essere considerato fisiologico perché collegato sia al network di informazioni che l'endotelio riceve dal Microbiota sia alla tolleranza del sistema immunitario, cioè la capacità di distinguere tra il "self" e "non self". Alla base della salute della parete addominale intestinale e quindi del suo stato di infiammazione, c'è l'integrità dell'endotelio, che non permette a sostanze estranee di superare la barriera ed entrare nel sangue. **Le cellule dell'endotelio intestinale sono fortemente adese tra loro e lo spazio tra le varie cellule è chiuso da fasci di proteine che fanno da congiunzione fra le cellule, le tight junctions.** Questa barriera controlla il flusso di aminoacidi solubili, zuccheri, acidi grassi, ma anche proteine ad azione immunogena presenti negli alimenti, lipopolisaccaridi batterici ecc. Tutte le situazioni che partendo dal Microbiota e dalla sua relazione con la parete la alterano possono innescare un'infiammazione minima sub mucosale, che può evolvere, a seconda delle circostanze e della gravità, verso l'alterazione delle tight junctions, con l'alterazione della permeabilità della barriera. Le cause possono essere situazioni classiche ben note come la **Celiachia** o le malattie infiammatorie autoimmunitarie come il **Morbo di Crohn** o la **Colite ulcerosa**, **le allergie alimentari**, ma ci sono anche tante **situazioni di infiammazione silente, sostenute da cause di Disbiosi intestinale** come l'uso di farmaci antibiotici, cortisonici, inibitori di pompa, l'azione tossica sul Microbiota da parte di metalli pesanti come il mercurio, le tossine della candida, lo stress, le alterazioni ormonali, la dieta con eccesso di zuccheri soprattutto raffinati, l'eccesso di acidi grassi saturi o di carne con PH intestinale troppo alto, i batteri patogeni, i funghi, le micotossine (aflatossine, ocratossine, Dan ecc.). Anche le lecitine presenti in alcuni alimenti possono non essere geneticamente tollerate. Tutte queste situazioni possono sfociare nella cosiddetta **Leaky gut sindrome o Sindrome dell'intestino permeabile**. La causa può essere la somma di più agenti infiammatori che promuovono contemporaneamente l'infiammazione della parete, che, se rilevante, porta alla perdita di unione tra le cellule dell'endotelio con il passaggio di macromolecole e tossine. È possibile anche la penetrazione di germi patogeni. A questo punto la sintomatologia può essere estremamente varia con sintomi locali, come dolore, gonfiore, crampi, flatulenza, alterazioni dell'alvo, nausea, associati a sintomi sistemici come prurito, eritemi, eczemi, sindromi pseudo allergiche, cefalee, rash cutanei, intolleranze alimentari, epatopatie tossiche, alterazioni dell'umore, del carattere, del sonno, sindromi neurologiche, stanchezza, difficoltà di concentrazione, della memoria, dolori diffusi, alterazione del gusto.

## ***Quali esami possiamo fare per confermare il sospetto di una Leaky gut sindrome o Sindrome dell'intestino permeabile?***

Penso che l'esame più utile sia il dosaggio della **Zonulina nel sangue** perché è una proteina dalla quale dipende la permeabilità tra le cellule dell'endotelio intestinale e quindi più alto è il valore più è probabile la patologia della parete. In alternativa **nelle feci** si possono ricercare due sostanze: ancora la **Zonulina e**

**l'α1 antitripsina**, che aumentano se c'è un danno della parete intestinale. Sempre nelle feci si può effettuare la ricerca della **Calprotectina fecale (presente nel citoplasma dei granulociti neutrofili)**, che aumenta caratteristicamente quando c'è un'inflammatione importante della parete, ma potrebbe essere negativa per un'inflammatione silente. C'è poi la **“prova con lo zucchero” che consiste nel dosaggio nelle urine nel rapporto lattulosio/mannitolo**, dopo la somministrazione di una miscela dei due zuccheri sotto forma di bevanda. Il mannitolo ha molecole piccole mentre il lattulosio ha molecole grandi che passano solo se c'è la sindrome dell'intestino permeabile.

Nel sangue si dosano poi i soliti accertamenti che riguardano l'inflammatione, per esempio l'emocromo, la Proteina C reattiva, la VES, il fibrinogeno, che potrebbero però essere negativi pur in presenza di inflammatione di basso grado, perché sostenuta dalla presenza di citochine pro infiammatorie. Allora può essere utile dosare la **PCR ad alta risoluzione, l'Interleuchina 1 e l'Interleuchina 6**. Un altro esame interessante è il **Recaller test che dosa PAF e BAF** probabilmente rilasciati dalla parete intestinale.

**Il Disbiosi test** consiste nel dosaggio urinario di **Indacano e Scatolo**. Indacano e Scatolo sono metaboliti del Triptofano. L'aumento dell'Indacano nelle urine indica un aumento dei fenomeni putrefattivi intestinali ad opera di specie come Klebsiella e Proteus, che producono anche ammoniaca e fenoli che raggiunto il fegato possono provocare danni epatici, anche se il paziente non beve alcolici. L'odore delle feci è dovuto alla somma di queste sostanze.

**Il test del Microbiota può essere fatto attraverso il sequenziamento genomico batterico.** È un esame sicuramente molto interessante che dà un quadro generale della possibile presenza di una Disbiosi, ma uno degli importanti limiti di questo esame è il confronto con il Microbiota caratteristico della popolazione di riferimento. Poiché il tipo di alimentazione seleziona la flora microbica intestinale, il Microbiota studiato tramite un progetto nazionale negli Stati Uniti d'America non è certamente comparabile al Microbiota di una popolazione come quella italiana, che ha una alimentazione molto diversa. Sarebbe quindi auspicabile che esistessero degli studi di riferimento nazionali se non addirittura regionali. Sono diverse le sedi universitarie che offrono questo servizio a costi contenuti, con una risposta interpretativa ed i relativi consigli dietetici, il tutto per raccogliere dati ed avere una mappa del Microbiota italiano.

**Il Profilo Metabolomico** degli acidi organici valuta 58 metaboliti urinari. L'analisi fornisce indicazioni su squilibri alla base di molte patologie croniche e relative anche alle tossine batteriche e fungine derivate dall'intestino, controlla i valori nutrizionali che esprimono carenze vitaminiche o di antiossidanti, indica se i sistemi detox sono efficienti, controlla la funzionalità dei neurotrasmettitori e tanto altro. Può essere di aiuto nel caso si sospetti una Disbiosi da Candida.

**Il Breath test al lattulosio, H<sub>2</sub> Breath test**, consiste nel misurare l'emissione col respiro di idrogeno dopo un carico di lattulosio. Normalmente il picco di emissione compare dopo 30- 90 minuti, tempi superiori o inferiori indicano alterazioni del normale transito del cibo. È un esame utile per la diagnosi di SIBO.

**La terapia** poi è conseguente all'ipotesi eziopatogenetica e quindi orientata verso varie possibilità da mettere in atto contemporaneamente con prebiotici e probiotici. L'epitelio intestinale si rinnova completamente in sei giorni e quindi l'efficacia delle cure si dovrebbe poter vedere in tempi brevi, anche se alcune situazioni sono molto difficili da eradicare. Con la dieta è possibile modificare il Microbiota in tre giorni, ma poi bisogna continuare lo stesso regime alimentare per potere avere un risultato efficace.

### ***Un capitolo a parte: La Disbiosi da Candida***

la Candida albicans, lievito saprofito con funzione di fermentazione degli zuccheri, è un germe presente in tutte le mucose capace di dare infezione nelle situazioni in cui si abbassano le difese immunitarie, di solito in grado di contenerne la moltiplicazione. La Disbiosi intestinale da Candida, a differenza di quella

vaginale, è un'entità poco conosciuta, probabilmente rara e per questo poco studiata. I dati che riporto sono per lo più osservazionali. La Disbiosi da Candida è spesso associata alla Disbiosi fermentativa perché anch'essa causata da una crescita eccessiva di batteri Saccarolitici, con i vari fenomeni che comportano una forte produzione di acido lattico e ciò determinerebbe un abbassamento del PH, che attiva la Candida. È normalmente un microorganismo saprofito, ma quando si attiva produce ife che si diffondono nei tessuti (per esempio la vagina) colonizzandoli. Un altro fattore che favorisce l'attivazione della candida, oltre al PH basso, è la presenza di una minore adesione alla parete della flora batterica normalmente presente. Ciò favorirebbe la penetrazione delle ife nella parete e la cronicizzazione. La presenza della Candida provocherebbe quindi l'inibizione di molti enzimi indispensabili per la digestione con conseguente notevole meteorismo e l'interferenza con l'assorbimento di vitamine, oligoelementi e aminoacidi. Un'altra caratteristica possibile sarebbe la comparsa di intolleranze o allergie verso cibi prima ben tollerati e ciò sarebbe dovuto alla infiammazione della parete intestinale, che ne altera la permeabilità favorendo il passaggio di macromolecole proteiche che si riversano nel sangue. Queste molecole possono provocare una reazione prevalentemente Th2 dei linfociti (cioè con evoluzione verso la formazione di anticorpi circolanti). Sono possibili anche autoanticorpi se queste macromolecole hanno una struttura affine a quella delle strutture tissutali dell'individuo. Alla base deve comunque esserci la sindrome dell'intestino permeabile. Di solito il sistema immunitario e il Microbiota sono in grado di contenere questo lievito, ma se la capacità del sistema immunitario si indebolisce o se il Microbiota si altera la Candida si attiva e così si possono avere infezioni vaginali, mugugno orale, infezioni cutanee da pannolino, onicomicosi, raramente infezioni polmonari ed infine la candidosi intestinale. La diagnosi è essenzialmente clinica e molto controversa, perché poco conosciuta nell'ambito medico. I sintomi importanti da prendere in considerazione sono il meteorismo e la comparsa di intolleranze ed allergie cutanee da adulti, prurito cutaneo, l'uso recente di farmaci che possono indebolire il sistema immunitario come i corticosteroidi o il Microbiota come gli antibiotici, la concomitanza con malattie sistemiche debilitanti come HIV, Diabete mellito, Chemioterapia, Radioterapia, Abuso di alcol o droghe, stress prolungato, tabagismo, squilibri ormonali. Bisogna ricordare anche l'uso di cibi che potrebbero essere contaminati da antibiotici o estrogeni e la presenza di amalgama in otturazioni dentarie a causa del costante assorbimento di mercurio. La relazione tra mercurio e Candida non è riconosciuta ufficialmente, sembra comunque che i lieviti siano resistenti al mercurio mentre i batteri e il sistema immunitario possono venire compromessi sempre dal mercurio, favorendo l'attivazione e la diffusione della Candida. Inoltre la Candida potrebbe anche trasformare il mercurio inorganico in organico, che è ancora più dannoso perché una volta assorbito supera la barriera ematoencefalica. Secondo alcuni la simbiosi mercurio-candida sarebbe un meccanismo di difesa dell'organismo che accetta la Disbiosi da Candida come mezzo per contenere e segregare il mercurio. Una dieta ricca di pane, carboidrati e zuccheri raffinati provocherebbe soprattutto il gonfiore intestinale verso il lato destro dell'addome per cui sarebbe necessaria una diagnosi differenziale con la SIBO. Altri sintomi possono essere alterazioni dell'alvo, crampi addominali, nervosismo, stanchezza, perdita di peso, malessere generalizzato, dolori generalizzati, il tutto dovuto ad infiammazione diffusa. Infine sarebbe una caratteristica peculiare l'esaltato desiderio di dolci, che potrebbe essere dovuto a sostanze assorbite che agiscono a livello cerebrale, condizionando le scelte. La diagnosi strumentale è molto difficile, comunque possono essere ricercati gli **anticorpi anti Candida** nel sangue IgM, IgG, IgA, si può fare l'**intradermoreazione con Candida**, la **coprocultura su terreni di cultura particolari**. Forse indirettamente può essere di aiuto il "**test del Microbiota**". Interessante il "**test Metabolomico**" perché permette tra l'altro la misurazione nelle urine di metaboliti che aumentano in caso di Candidosi come L'Arabinosio e L'Arabitolo.

## ***Il Microbiota in relazione ad alcune patologie sistemiche***

Esistono moltissimi studi riguardo la alterazione del Microbiota come causa o concausa di patologie sistemiche. Sono studi molto interessanti soprattutto per comprendere le relazioni tra intestino ed il resto del corpo, ma non mi sembra che per ora abbiano delle importanti ricadute dal punto di vista clinico e terapeutico.

### ***Microbiota, obesità, sindrome metabolica e Diabete tipo 2***

Di solito in una dieta si calcolano la quantità di calorie introdotte e quelle consumate con il metabolismo e l'attività fisica. Ci sono importanti lavori che però confermano che un maggiore o minore assorbimento di calorie è determinato dal Microbiota. I pazienti obesi sono portatori di una flora intestinale diversa con maggiore componente di Firmicutes, che regolano un maggiore assorbimento di calorie. Questo Microbiota è presente fin dall'infanzia e permette un assorbimento dal 3 al 5% in più di calorie. Con l'obesità si può incorrere anche nella Sindrome metabolica, con aumento dell'assorbimento del glucosio, picchi di insulina ed una possibile evoluzione verso l'insulino-resistenza che, nei soggetti geneticamente predisposti, evolve verso il Diabete mellito tipo 2. Anche nella gravidanza c'è una modifica del Microbiota in funzione dell'aumento ponderale.

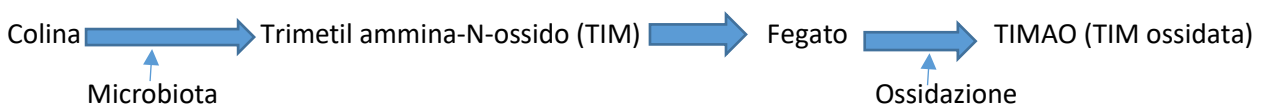
La prevalenza dei batteri Firmicutes supera del 20% la presenza di Bacteroides e Prevotella ed è correlata con una dieta più ricca di carne, latticini, grassi vegetali idrogenati, e povera di fibre. I trattamenti possibili quindi sarebbero tramite la dieta, i prebiotici, i probiotici, la chirurgia bariatrica e il trapianto fecale. È importante evitare gli antibiotici perché peggiorano l'obesità. Nella dieta è importante aumentare i vegetali e la fibra. Ultime considerazioni: se la madre è obesa ed ha quindi un Microbiota obeso, passerà questo Microbiota tramite il parto ed il bambino sarà predisposto all'obesità, con peggioramento durante l'adolescenza perché nella dieta degli adolescenti purtroppo abbondano grassi e carboidrati, mentre scarseggiano i vegetali. Nei bambini nati con parto cesareo c'è un aumento dell'obesità e delle malattie allergiche.

### ***Microbiota e Diabete tipo 1***

Il Diabete tipo 1 è su base immunitaria e compare in età giovanile. Dalla nascita il Microbiota è impegnato ad aiutare il sistema immunitario della parete intestinale nel riconoscimento tra "self" e "non self". Se in questa fase non c'è il giusto equilibrio tra Bacteroides, Bifido batteri ed Escherichia coli, ciò provocherebbe una distorsione del sistema immunitario con suscettibilità alle malattie autoimmunitarie, per una Disbiosi pro infiammatoria, ma con meccanismo da chiarire. Probabilmente esiste una suscettibilità genetica che l'infiammazione intestinale, con i suoi meccanismi e prodotti, è in grado di slatentizzare.

### ***Microbiota ed Aterosclerosi***

Oltre ai noti fattori genetici (familiarità ed ipercolesterolemia) e alimentari (aumento nella dieta di colesterolo e trigliceridi) e gli altri fattori di rischio (sesso, sedentarietà, ipertensione, diabete, obesità e fumo) esistono dei fattori di rischio che riguardano la formazione della placca aterosclerotica, collegati ad un eccesso di Colina nell'intestino, che determina un eccesso del suo composto organico derivato dal metabolismo del Microbiota: Trimetil amina-N-ossido, TIM.





La TIMAO modula il metabolismo del colesterolo inducendo infiammazione a livello delle cellule endoteliali aortiche e favorendo la formazione della placca aterosclerotica. La TIMAO è prodotta dal catabolismo batterico di carne rossa, uova e prodotti lattiero-caseari. I suoi precursori sono la Fosfatidilcolina, la Colina e la L-carnitina presenti appunto in questi alimenti.

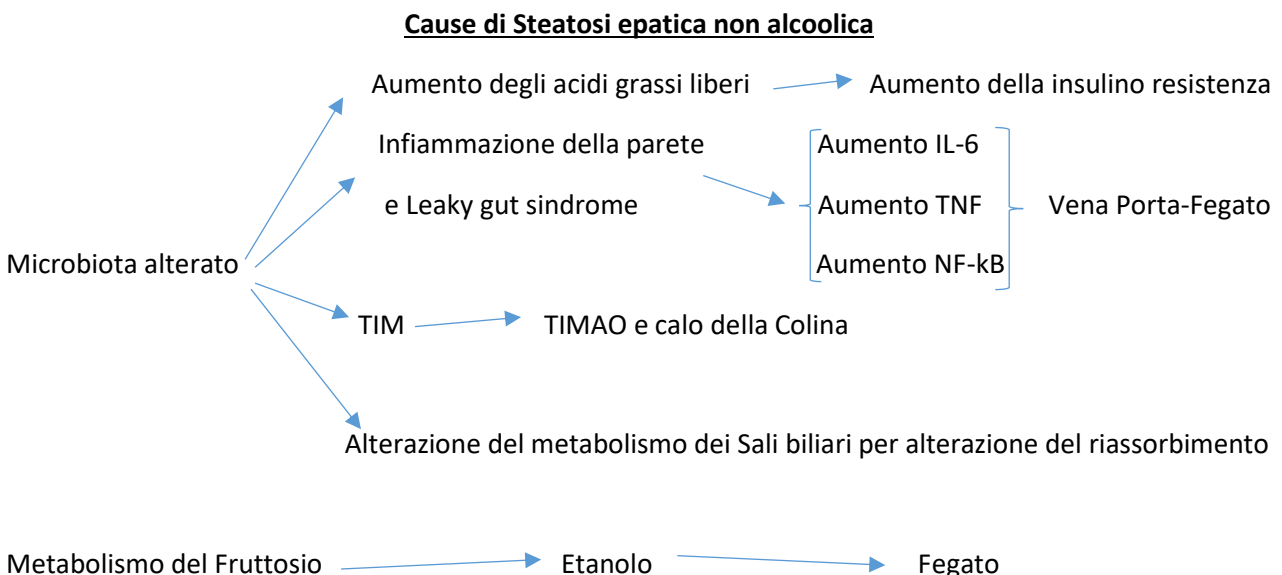
Esiste una patologia strana collegata alla TIM, si chiama Trimetilamminuria, ma è chiamata anche la malattia dell'odore di pesce. Se la monossidasi responsabile dell'ossidazione della TIM in TMAO è assente manca l'ossidazione che toglie l'odore e la sua eliminazione nelle secrezioni corporee è particolarmente sgradevole. La forma principale è genetica e riguarda l'enzima monossigenasi.

## **Microbiota ed ipertensione arteriosa**

Sono stati condotti degli esperimenti su topi iniettando angiotensina II in due gruppi di topi con diverso Microbiota. La pressione arteriosa aumentava solo nei topi con Disbiosi.

## **Microbiota e steatosi epatica**

Il fegato grasso è dovuto al sovraccarico epatico da parte di tutta una serie di sostanze provenienti dall'intestino soprattutto in relazione all'infiammazione, con evoluzione verso la Leaky gut sindrome. I fattori più importanti dipendenti dal Microbiota sono gli **acidi grassi**, **l'aumento dei fattori di infiammazione (IL-6, TNF) che attivano il fattore di trascrizione NF-kB**, **la TIMAO che provoca diminuzione della Colina**, **l'alterazione dei sali biliari**. Se viene poi introdotto molto **Fruttosio** con l'alimentazione, per esempio come dolcificante, la sua fermentazione produce **etanolo** che viene assorbito e va a sovraccaricare il fegato.



## **Microbiota e malattie croniche intestinali**

Le malattie croniche intestinali hanno una flora batterica caratteristica, diversa tra loro e diversa da quella del soggetto sano. L'alterazione del Microbiota è causa o effetto della malattia? Sicuramente i fenomeni

di infiammazione e di permeabilità della parete, con aumento dello stress ossidativo per accumulo dei ROS, sono meccanismi patogenetici importanti delle malattie croniche.

## ***Disbiosi intestinale e malattie neurologiche***

Come abbiamo già visto ci sono dei meccanismi di segnalazione che operano in maniera bidirezionale tra intestino e cervello con la mediazione del Microbiota: le strutture coinvolte sono il Sistema Nervoso Centrale, il Sistema Nervoso Enterico, il Sistema Nervoso Autonomo, il Sistema Neuroendocrino ed il Sistema Neuroimmunitario.

Il Sistema Nervoso Centrale e quello enterico si sviluppano in parallelo e comunicano tra loro tutta la vita formando l'asse intestino-cervello. Fondamentale è anche il ruolo del Microbiota ed il suo patrimonio genetico. L'esposizione a particolari microrganismi in momenti specifici della crescita potrebbe avere quindi conseguenze sia sul comportamento che sulle malattie. Di conseguenza i trattamenti che alterano la flora intestinale potrebbero influenzare il sano sviluppo cerebrale. Vi sono lavori in tal senso, anche se non in grado di dare conclusioni definitive.

### ***Microbiota e Malattia di Parkinson***

I meccanismi che potrebbero alterare l'asse intestino-cervello nel Parkinson sono:

la composizione alterata del Microbiota, una diminuzione degli acidi grassi a catena corta, errati segnali inviati dal nervo vago, un alterato metabolismo dei farmaci.

Alla base del morbo di Parkinson, che è una malattia neurodegenerativa caratterizzata da sintomi motori e non, c'è la compromissione dei meccanismi mediati dalla Dopamina. La sintesi della Dopamina nel cervello è attivata dagli enzimi produttori di Dopamina che sono controllati dal Microbiota intestinale. Si crede anche che questi meccanismi siano la fonte dei problemi di costipazione nella malattia di Parkinson e dell'infiammazione intestinale. È stata trovata una forte diminuzione delle Prevotellacee nei pazienti con M. di Parkinson e un aumento di Enterobatteriacee. La diversità però non era in sé molto significativa, ma esiste uno studio clinico italiano realizzato nel 2015, che ha mostrato un miglioramento della costipazione nei pazienti affetti da Parkinson, che prendevano il latte fermentato arricchito di probiotici (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillo* e *Bifidobacterium*) e di prebiotici. Si è visto che molti pazienti presentavano stipsi molti anni prima dell'insorgere della malattia.

### ***Microbiota e Malattia di Alzheimer***

Ci sono interessanti lavori che provano che alcune proteine prodotte dal Microbiota possano favorire la deposizione di sostanza amiloide nel Sistema Nervoso Centrale e ciò è considerato un target per la malattia di Alzheimer, con le cosiddette placche amiloidi. Si è potuto appurare che livelli elevati nel sangue di lipopolisaccaridi (tossine componenti esterni della membrana dei germi Gram negativi) e di alcuni tipi di acidi grassi a catena corta (l'acido acetico e quello valerico) erano associati a segnali PET di malattia, mentre i livelli alti di butirato erano invece associati a minore frequenza della malattia. I lipopolisaccaridi penetrano la parete intestinale e si diffondono attraverso la circolazione sanguigna, come pure altre sostanze, quando c'è l'infiammazione e l'aumento della permeabilità della parete intestinale.

## ***Correlazione tra dieta e infiammazione***

Confrontando la cosiddetta Dieta Mediterranea con la Dieta Occidentale, molti studi evidenziano che la seconda provoca alterazioni del Microbiota, che determinano infiammazione. I cibi hanno quindi un effetto che può essere o infiammatorio o antinfiammatorio. La dieta occidentale presenta un aumento dei

grassi e delle proteine con proliferazione delle specie Firmicutes e dei Proteo batteri con conseguente diminuzione degli acidi grassi a catena corta, aumento degli enzimi catabolici, alterazione dei Sali biliari coniugati, aumento dei mediatori dell'infiammazione e l'aumento della resistenza insulinica. Come conseguenza è possibile l'aumento dell'infiammazione della parete intestinale e l'aumento della permeabilità intestinale. Nella dieta mediterranea, quella vera cioè ricca di fibre solubili, abbiamo invece un aumento dei Bacteroides e Prevotella con aumento degli acidi grassi a catena corta, degli enzimi anabolizzanti, aumento della sintesi della Riboflavina, del Glutammato, dei fattori di regolazione dei linfociti T reg, aumento della sensibilità all'insulina e quindi una protezione sulla parete intestinale, con minore probabilità dell'insorgenza della Leaky gut sindrome. Nella dieta mediterranea c'è inoltre un alto consumo di pesce, soprattutto "azzurro" ricco di Omega 3 che stabilizza le membrane cellulari di tutte le cellule rallentandone l'invecchiamento.

# Sensibilità chimica multipla MCS

## Premessa

Uno dei miei professori universitari soleva ripetere che ogni Medico diagnostica le malattie che conosce e quindi non è assolutamente da biasimare il Medico che non è in grado di diagnosticare una malattia rara perché può succedere di non averla mai incontrata nel suo iter professionale e quindi non è in grado di riconoscerla. Naturalmente non ha senso però che questo Medico sostenga che non esista la malattia solo perché lui non è in grado di diagnosticarla. Purtroppo è quanto sta avvenendo riguardo alla malattia denominata **Sensibilità Chimica Multipla (MCS)**. È sicuramente una malattia rara, perché ha un'incidenza del 2% circa della popolazione, considerando anche le forme lievi, ed è una malattia multifattoriale e quindi come tale molto difficile da diagnosticare. Ha probabilmente una componente genetica dato che l'80% dei pazienti portatori di tale malattia sono portatori anche di importanti polimorfismi genetici riguardo enzimi coinvolti nella detossificazione, nell'equilibrio redox e nei meccanismi immunitari dell'infiammazione, ma è sempre strettamente correlata con l'esposizione a xenobiotici ambientali, anche se presenti in piccole dosi.

Certamente l'approccio a questo tipo di paziente sconcerta il Medico abituato a fare la diagnosi in base ad una sintomatologia caratteristica, che indirizzi verso una serie di ipotesi possibili, da dirimere eventualmente con le opportune analisi. Il corredo di sintomi e le modalità di esordio sono estremamente vari e scollegati tra loro, tali da indurre molte perplessità. A differenza delle malattie rare metaboliche non esiste un esame specifico per caratterizzare ed individuare la MCS e questo sta creando molti problemi alle commissioni regionali di specialisti delle malattie rare, convocate per stabilire i criteri di identificazione. Spesso questi pazienti, dopo qualche anno dall'esordio, si autodefiniscono "allergici a tutto" e diventano una spina nel fianco del Medico curante che non sa come approcciarsi a loro. D'altra parte l'alleanza Medico-Paziente è il presupposto imprescindibile per iniziare un percorso diagnostico-terapeutico ed è fondamentale, anche per questo tipo di Paziente, poter contare sulla fiducia del proprio Medico. Per tale motivo ho inserito in questi "Appunti" un breve riassunto delle caratteristiche principali della malattia.

## I Criteri diagnostici

Nel sito del ministero della salute

([https://www.salute.gov.it/portale/temi/p2\\_6.jsp?lingua=italiano&id=4405&area=indor&menu=vuoto](https://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_6.jsp?lingua=italiano&id=4405&area=indor&menu=vuoto)) è riportata come una patologia esistente, ma con la seguente definizione "La **Sindrome da sensibilità chimica multipla** (Multiple chemical sensitivity syndrome - MCS) o Intolleranza idiopatica ambientale ad agenti chimici (IIAAC) è un disturbo cronico, reattivo all'esposizione a sostanze chimiche, a livelli inferiori rispetto a quelli generalmente tollerati da altri individui, e in assenza di test funzionali in grado di spiegare segni e sintomi. La reale esistenza e definizione di questa sindrome è oggetto di ampio dibattito a livello scientifico e al momento non vi sono ancora solidi parametri di riferimento per la diagnosi di tale patologia." Data di pubblicazione: **16 dicembre 2015**, ultimo aggiornamento **16 dicembre 2015**.

La MCS è riconosciuta come malattia organica, non psichiatrica, negli Stati Uniti, in Canada, Australia, Giappone e, a livello europeo, in Germania, Austria, Danimarca (pur con inquadramenti diversi nell'ICD

10), anche l'OMS la riconosce pur con un inquadramento ICD 10 non specifico, mentre in Italia non vi è nessun riconoscimento nazionale. Al livello regionale è riconosciuta in 7 regioni.

Fin dal 1987 (*Cullen, MR 1987 Il lavoro con Sensibilità Chimica Multipla: una visione d'insieme. Medicina del Lavoro 2, 655-661, 1987*) molti Medici hanno cercato di elencare dei criteri diagnostici ben definiti per inquadrare la malattia e dare un riferimento pratico a chi si occupava di questi malati, ritenuti altrimenti pazienti psichiatrici, psicosomatici o depressi e quindi "curati" con antidepressivi nella migliore delle ipotesi, ma sempre trascurati se non evitati. Sono seguiti nel tempo vari "Consensus Report" nei quali, pur essendo il termine Sensibilità Chimica Multipla (in breve MCS) quello usato più comunemente, gli altri nomi utilizzati nella letteratura scientifica sono stati **"intolleranza agli xenobiotici ambientali"** (inserita nell'aggiornamento tedesco dell'International Code of Disease ,IDC IO-GM, sotto il codice T78.4) **"intolleranza idiopatica ambientale"**, **"malattia ecologica"** o **"Sindrome immuno-neurotossica infiammatoria di origine ambientale"** ecc. ecc. In Italia non si può non citare il Prof. Giuseppe Genovesi, specialista in Endocrinologia, Immunologia e Psichiatria, morto prematuramente nel 2018. Era ricercatore di Medicina Sperimentale al Policlinico Umberto I dell'Università di Roma e, pur in mezzo a mille difficoltà, si è speso per diffondere le conoscenze riguardo la MCS e la cura di tanti malati.

Nel 2015 un gruppo di medici e ricercatori di varia nazionalità ha firmato la "Risoluzione di Roma" (<https://www.infoamica.it/risoluzione-di-roma/>), dove si ribadisce l'origine organica e non psichiatrica della malattia.

Nel 2019 un gruppo di medici e ricercatori italiani ha pubblicato il primo Consensus italiano sulla Sensibilità chimica multipla (<https://www.oltrelamcs.org/eventi/consenso-italiano-sulla-mcs-1/>), un documento prezioso, che si rifà all'esperienza clinica dei partecipanti ed alle numerose precedenti pubblicazioni internazionali. Ritengo che questo documento, per il suo carattere descrittivo riguardo una patologia molto complessa e senza esami specifici di riferimento, sia quanto di meglio si possa avere come aiuto per la diagnosi, anche se poi molto dipende dall'esperienza che si acquisisce dalla relazione nel tempo con questo tipo di pazienti.

**I criteri del Consenso italiano 2019** sono i seguenti: condizione cronica con sintomi ricorrenti in modo riproducibile, in risposta a bassi livelli di esposizione a sostanze chimiche multiple non correlate tra loro, che migliora o scompare quando gli agenti scatenanti sono rimossi, ed infine la sintomatologia è a carico di più organi o apparati. Naturalmente devono essere escluse a priori tante patologie croniche anche rare, e questo rende spessissimo difficile la diagnosi, perché comporta la necessità di consulenze specialistiche varie. Nel Consensus, che è possibile reperire tramite Internet (<https://www.infoamica.it/consenso-italiano-sulla-sensibilita-chimica-multipla-mcs/>) sono indicate anche le analisi suggerite sia in prima istanza che successivamente. Nel 2021 gli stessi autori si sono riuniti per un altro Documento di Consenso (Consenso 2021 MCS [ijerph-18-11294.en.it-1.pdf](https://www.ijerph-18-11294.en.it-1.pdf)), a mio parere utile solo agli specialisti del settore. Sottolineo il fatto che spesso, nella storia dei pazienti con MCS, c'è una esposizione massiccia a xenobiotici in un particolare momento della loro vita, o la frequenza lavorativa costante in locali mal areati esposti ad accumulo di xenobiotici, oppure l'esposizione a particolari interventi odontoiatrici, con materiali vari nel cavo orale, specialmente amalgama o altri metalli.

## Sintomi

Il corredo di sintomi è estremamente vario e riguarda più organi o apparati. È indotto di solito da esposizioni anche brevi a concentrazioni molto basse di sostanze volatili (prodotti petrolchimici, prodotti della combustione, antiparassitari, residui organici volatili, solventi, cloro organico ed inorganico, solfuro d'idrogeno ecc. ecc.).

**Sintomi riferibili al SNC** (encefalopatia tossica) come cefalea, vertigine, disturbi a carico della memoria e della concentrazione, confusione fino alla perdita di capacità di reagire e fuggire al momento della crisi,

parestesie, astenia, facile faticabilità, irritabilità, disturbi del sonno, depressione (attenzione, in questo caso non è la causa della malattia, ma un sintomo che insorge al momento della crisi). Nel 2005 un ricercatore, il dott. Michael Lacour, sottolineò che deve essere sempre presente un sintomo riferibile al SNC ed almeno un altro sintomo riferibile ad un altro sistema di organi, per poter fare la diagnosi.

**Sintomi riferibili ad una spiccata reattività delle mucose**, soprattutto delle vie respiratorie in assenza di test allergometrici positivi per le allergie ambientali ed alimentari, con tosse, dispnea, lacrimazione, rinite, sanguinamento delle mucose.

**Sintomi cutanei** come prurito, irritazione, eritema, orticaria non allergica.

**Sintomi dell'ambito ORL** come mal di gola, naso pruriginoso, sinusopatia, difficoltà di deglutizione.

**Sintomi a carico dell'apparato cardiovascolare** come tachicardia, palpitazioni, senso di costrizione toracica, dispnea.

**Sintomi a carico dell'apparato muscolo scheletrico** come debolezza muscolare, dolori di vario tipo sia muscolari che articolari, tremori, spasmi, crampi.

**Sintomi riferibili all'apparato gastro intestinale** come nausea, vomito, diarrea, meteorismo, dispepsia.

**Sintomi a carico dell'apparato genito-urinario** come disuria, nicturia, vulvodinia, bruciore vaginale.

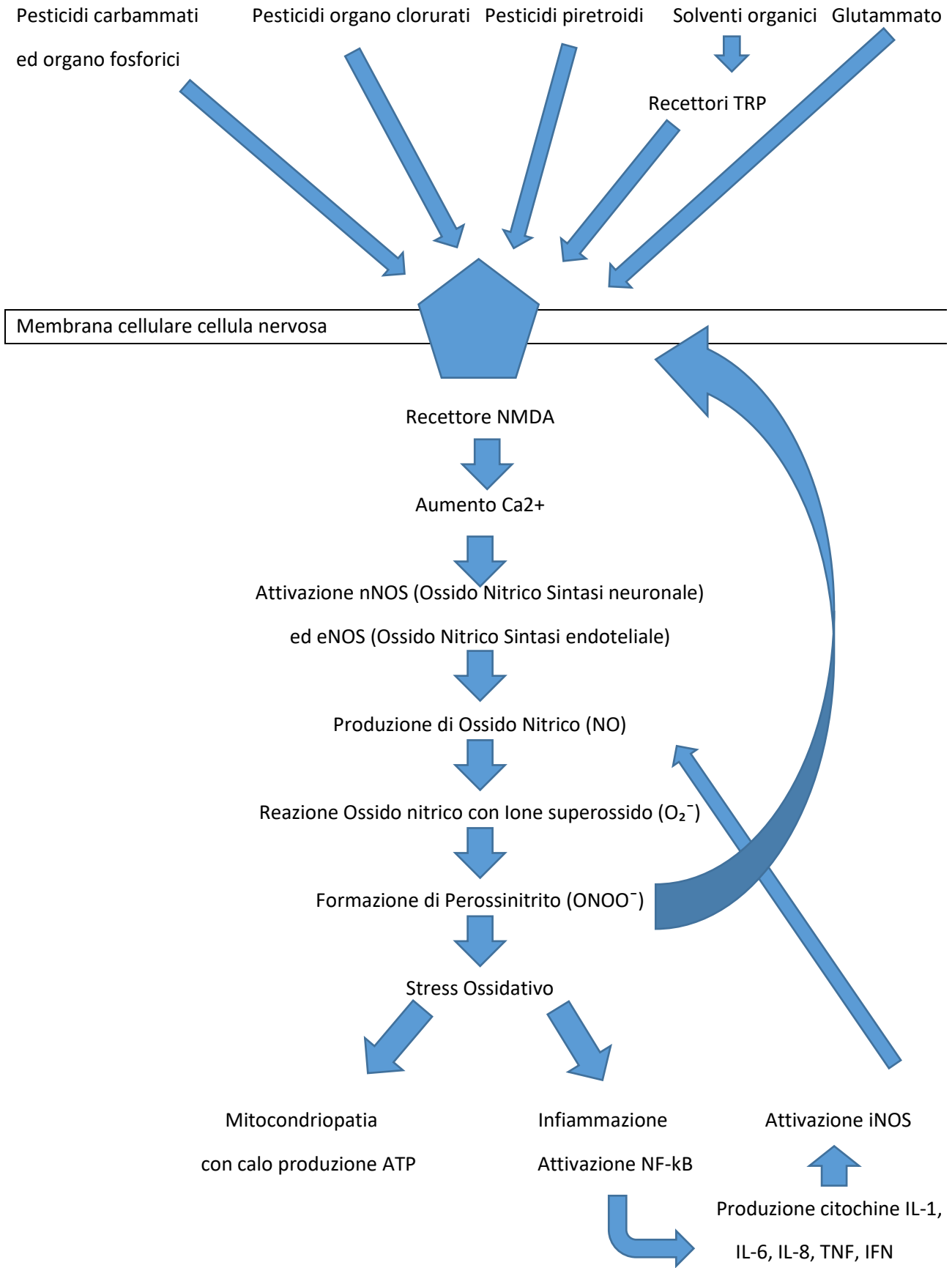
Naturalmente è importante per la diagnosi che il corredo di sintomi si presenti in maniera improvvisa in occasione dell'esposizione ad agenti xenobiotici di varia natura, ma con un quadro simile se non identico, spesso caratteristico del paziente. Le prime crisi sono quelle che più frequentemente spaventano e conducono il paziente al Pronto soccorso, dove di solito gli accertamenti ematochimici e strumentali di routine sono nella norma ed il paziente viene spesso dimesso dopo una dose di cortisone, supponendo una un'etiologia allergica, o una dose di sedativi, per l'ipotesi di crisi di panico, o rassicurato per l'ipotesi di crisi vagale. Si presenteranno poi altre crisi, anche a distanza ravvicinata e di varia durata, da pochi minuti, se il paziente riesce a fuggire velocemente dall'esposizione, fino alla durata di ore o giorni, con un forte stato di prostrazione. **Col tempo, in caso soprattutto di crisi ravvicinate, il paziente perde progressivamente di tolleranza** e quindi anche l'esposizione a dosi ancora più basse scatena la crisi, spesso anche solo l'odore. In caso di malattia completamente fuori controllo, dopo queste prime fasi di perdita della tolleranza, **subentra un quadro di infiammazione cronica e stress ossidativo diffuso con un quadro complesso di forte compromissione dello stato generale, difficilmente reversibile.**

Sono colpite da questa malattia soprattutto le donne, secondo alcuni perché più esposte, sul lavoro ed a casa, all'uso di detersivi di vario tipo, ma la teoria più attendibile è che i loro sistemi di detossicazione siano già sovraccaricati dal metabolismo degli estrogeni (esempio enzimi CYP1B1, COMT e GST).

Moltissime pazienti soffrono di iperosmia e ciò facilita lo scatenarsi della crisi anche al semplice percepire dell'odore, ma l'iperosmia non deve essere considerata un sintomo patognomonico, dato che ci sono anche pazienti con anosmia. D'altra parte ci sono molte persone affette da iperosmia, ma non per questo ammalate di MCS.

# Patogenesi della MCS e Ciclo NO/ONOO<sup>-</sup>

## Reazioni chimiche nella MCS e ciclo Ossido Nitrico/Perossinitrito



Il Professor Martin Pall, Biologo, Professore emerito della Washington State University, ha evidenziato questo **circolo vizioso denominato Ossido Nitrico (NO)/Perossinitrito (ONOO<sup>-</sup>)** che è alla base, assieme ad altri meccanismi, della patogenesi della MCS e di tante malattie croniche del SNC.

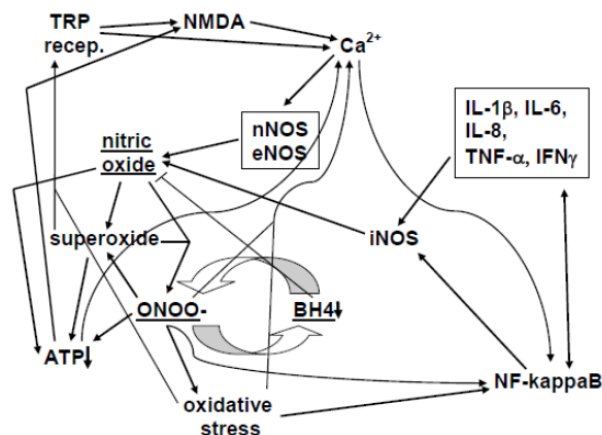
### Spiegazione dello schema

Tutto parte dall'attivazione del **recettore di membrana NMDA** (N Metil D Aspartato) che è amplificata nella MCS. Il neurotrasmettitore Glutammato è l'agonista fisiologico di questo tipo di recettore della membrana neuronale, che è un canale ionico trans membrana che promuove il passaggio all'interno degli ioni calcio e sodio (una elevata attività del recettore sembra sia in causa anche nella Fibromialgia, nella Malattia della stanchezza cronica, CFS, e nel Disturbo post traumatico).

Le sostanze xenobiotiche, per lo più Pesticidi e Solventi organici determinano una iperattivazione dei recettori NMDA e ciò determina un flusso aumentato di Ca<sup>2+</sup>, ioni calcio, all'interno del neurone. Ciò determina un'attivazione degli enzimi nNOS ed eNOS, cioè gli enzimi Ossido Nitrico Sintasi neuronale ed endoteliale (vedi il capitolo sullo stress ossidativo), con forte produzione di Ossido Nitrico, che reagisce con lo ione superossido formando Perossinitrito, il quale a sua volta amplifica l'attività del recettore NMDA generando un'**auto mantenimento del ciclo**. A sua volta poi lo Stress ossidativo è causa di attivazione del fattore di trascrizione NF-kB con produzione di citochine ed infiammazione che attiva iNOS, l'enzima Ossido Nitrico Sintasi inducibile, con ulteriore forte produzione di Ossido Nitrico. Inoltre lo stress ossidativo (soprattutto l'Ossido nitrico in eccesso) provoca una sofferenza forte del mitocondrio, compromettendo la possibilità di soddisfare l'alto fabbisogno di energia delle cellule del SNC e dell'endotelio dell'unità neuro vascolare.

Inserisco delle ulteriori informazioni riguardo lo schema: come si vede i solventi organici stimolano i Recettori TRP, che sono un gruppo di proteine di membrana, chiamati recettore-canale, che determinano delle variazioni transitorie del potenziale (da cui il nome Transient Receptor Potential Channel) e sono coinvolti nella trasduzione di una grande quantità di stimoli fisici e chimici, come la percezione della temperatura, dell'olfatto, del gusto e del dolore. Questi recettori sono quindi implicati in molte possibili disfunzioni, anche per la loro azione sui recettori NMDA, ed In parte possono essere modulati dai cannabinoidi e questo spiega l'attuale uso dei cannabinoidi nella Fibromialgia. Oltre alle tre classi di pesticidi ed ai solventi organici ci sono molte altre sostanze che attivano il recettore NMDA: molti erbicidi, fungicidi, metalli, antibiotici, sostanze epatotossiche, tossine mitocondriali, tossine da pesci e molluschi tropicali ed altre sostanze tossiche. Anche le radiazioni elettromagnetiche possono alterare la funzionalità del recettore e questo giustifica le reazioni degli individui elettrosensibili.

Allego l'immagine completa tratta dalle pubblicazioni di Martin Pall sul ciclo NO/ONOO<sup>-</sup> per rendere esplicita la maggiore complessità di quanto ho esposto, che comunque nella semplificazione è più comprensibile.





1. Pall M. L. 2009 Multiple chemical sensitivity: Toxicological questions and mechanisms. In *General and Applied Toxicology*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, pp. 2303-2352.
2. Pall M. L. 2007 "Explaining 'Unexplained Illness': Disease Paradigm for Chronic Fatigue Syndrome, Multiple Chemical Sensitivity, Fibromyalgia, Post-Traumatic Stress Disorder, Gulf War Syndrome and Others", 16 Chapter book, Harrington Park (Haworth) Press.
3. Pall ML. 2013 The NO/ONOO<sup>-</sup> cycle as the central cause of heart failure. *Int J Mol Sci*. 2013 Nov 13;14(11):22274-330 .

## ***I polimorfismi genetici a singolo nucleotide nella MCS***

Il ciclo NO/ONOO<sup>-</sup> non è l'unico meccanismo alla base della MCS, importantissimi sono i **polimorfismi enzimatici presenti in una alta percentuale dei pazienti, aumentando quindi la suscettibilità alla malattia.**

I più importanti rilevati sono quelli che interessano i seguenti geni:

PON1, CYP1A1, CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A5, NAT2, GSTM1, GSTT1, GSTP1, UGT1A1, MTHFR, SOD-2 (metabolizza lo ione superossido) ed il gene del recettore CCK-B che agisce aumentando l'attività del recettore NMDA nella MCS.

Molti di questi polimorfismi sfavorevoli sono responsabili dello stress ossidativo e dell'accumulo nell'organismo della somma di diverse sostanze tossiche. Fino a quando l'organismo riesce ad eliminare l'eccesso non compaiono sintomi, ma all'arrivo dell'ultima sostanza che determina il sovraccarico, qualunque essa sia, compare la sintomatologia. La suscettibilità alla malattia quindi può essere influenzata dalla genetica, ma è determinante l'esposizione a sostanze xenobiotiche ambientali.

Non solo, alcuni pazienti hanno anche polimorfismi riguardo la genetica dei fattori pro infiammatori e ciò determina un diverso rischio infiammatorio, che può essere indagato attraverso lo studio dei polimorfismi relativi a IL1 $\alpha$ -889; IL1 $\beta$ +3953, TNF $\alpha$ -308, IL1RA+2018. Sono relativi all'Interleuchina 1 $\alpha$ , all'Interleuchina 1 $\beta$ , al TNF- $\alpha$ , ed al recettore IL1RA. In relazione a tali citochine, si hanno persone con fattore di rischio infiammatorio diverso.

## ***La Sensibilizzazione centrale nervosa ed il Potenzamento a lungo termine***

Un altro importante meccanismo che interessa le tre grandi malattie "strane", la Fibromialgia, la MCS e la CFS, è quello della **Sensibilizzazione centrale.**

A ogni **processo di apprendimento** corrisponde nel SNC una variazione di qualche circuito nervoso a livello strutturale o funzionale. Esiste quindi una **plasticità nella scelta dei circuiti cerebrali** e questa plasticità si esplica soprattutto a livello delle strutture sinaptiche che collegano i vari neuroni del circuito. **Il potenziamento a lungo termine, LPT**, è un importante fenomeno necessario per l'immagazzinamento delle informazioni e riguarda la frequenza con la quale vengono stimulate le sinapsi di quel circuito. Se le sinapsi ricevono una stimolazione con alta frequenza (in questo meccanismo è coinvolto il glutammato, il recettore NMDA, l'alto ingresso di ioni calcio e l'Ossido Nitrico, perché coinvolgono anche i recettori sinaptici), questo determina un effetto di potenziamento della trasmissione tra 2 neuroni, accelerando la velocità con cui lo stimolo viene trasmesso. In pratica le sinapsi diventano molto più sensibili e reattive rispetto a quelle di persone in cui non si sono attivati questi meccanismi. Anche la neuroinfiammazione contribuisce ad alimentare questo meccanismo. La professoressa Iris Bell ha proposto questo meccanismo come importante nella MCS e spiegherebbe come mai, con la progressiva perdita della tolleranza verso le sostanze tossiche, la reazione del paziente sia sempre più rapida e massiccia, talvolta anche solo alla percezione dell'odore.

1. Bell I. R., Miller C. S., Schwartz G. E. (1992) An olfactory-limbic model of multiple chemical sensitivity syndrome: possible relationships to kindling and affective spectrum disorders. *Biol Psychiatry* 32,218-242.
2. Bell I. R., Baldwin C. M., Fernandez M., Schwartz G. E. (1999) Neural sensitization model for multiple chemical sensitivity: overview of theory and empirical evidence. *Toxicol Ind Health* 15,295-304.

Ci sono conseguenze molto interessanti riguardo le possibilità terapeutiche, perché alcuni ricercatori stanno lavorando sulla **plasticità del SNC** per rimediare a danni patologici, ischemici o di altra natura, per ripristinare la comunicazione tra le varie aree cerebrali. Anche nell'ambito della MCS sono in corso delle sperimentazioni. Alcuni terapeuti danno una particolare importanza all'azione del "Sistema limbico", una parte antica del nostro cervello, che processa le sensazioni piacevoli e spiacevoli che riceviamo dall'esterno dando una valutazione "affettiva", cioè condizionata dalle nostre esperienze. Da queste premesse sono nati dei percorsi di riabilitazione neuronale, che sono proposti soprattutto alle persone con Sindrome della fatica cronica e Fibromialgia, ma anche con MCS. Questi tre quadri clinici hanno sintomi peculiari caratteristici, ma anche molti sintomi che si sovrappongono e non è infrequente trovare pazienti con la presenza contemporanea di queste patologie. Ciò sembra dovuto appunto al fenomeno della Sensibilizzazione centrale, oltre alla presenza di polimorfismi genetici. Esistono anche dei percorsi di riabilitazione neuronale attraverso l'agopuntura.

Nelle linee guida del 2019 viene proposto come presidio terapeutico anche la Mindfulness, una interessante e semplice pratica di psicoterapia, che aiuta il paziente a spostare la sua ottica verso il presente e le situazioni positive, ottenendone beneficio in ogni aspetto della vita. Probabilmente anche questa pratica agisce sulla plasticità del SNC.

## La Diagnosi

Di fronte ad una sintomatologia strana è bene che ogni Medico si ponga le seguenti domande:

- La sintomatologia del paziente è compatibile con un inquinamento ambientale?
- La sintomatologia è iniziata dopo un cambio di abitazione, di mobilio, del luogo di lavoro, dopo una ristrutturazione edilizia, con la frequenza di ambienti nuovi (palestre, club ecc.)?
- La sintomatologia si manifesta sempre quando il paziente si trova in certi locali o edifici?
- La patologia cambia nettamente oppure scompare se il paziente si allontana dai luoghi abituali?
- Ci sono quadri clinici analoghi in altre persone che vivono nello stesso ambiente?
- In realtà questa ultima domanda, se la risposta è negativa, ne suscita un'altra: è possibile che il paziente sia più suscettibile del resto della famiglia? (variabilità individuale o possibili anomalie genetiche?)

La presenza degli stessi sintomi in più persone che vivono o lavorano nello stesso ambiente indirizza ovviamente la diagnosi verso la cosiddetta **Sindrome dell'edificio malato** (vedi il capitolo relativo all'inquinamento indoor), mentre il constatare una probabile alterata suscettibilità dell'individuo studiato comporta altre domande, strettamente correlate ai criteri diagnostici della MCS:

- I sintomi sono riproducibili in seguito ad esposizioni ripetute a sostanze chimiche?
- La condizione è cronica? (almeno da 6 mesi)
- I sintomi si presentano a seguito di esposizioni a basse dosi, che normalmente vengono ben tollerate dalle altre persone? Nella storia delle pazienti si sente spesso riferire la comparsa della crisi in occasione dell'ingresso in locali appena lavati e non areati, soprattutto con detersivi forti, oppure a seguito del contatto con la "collega che si è presentata al lavoro con un forte profumo addosso".

- I sintomi migliorano o si risolvono quando il paziente si allontana dall'agente causale?
- Gli effetti si possono documentare a seguito di esposizioni molteplici a sostanze chimicamente non correlate tra loro?
- I sintomi sono relativi a più organi, almeno uno relativo al SNC più uno relativo ad un altro organo o apparato?

**Il percorso diagnostico** quindi parte da una attenta **Anamnesi**, cominciando da quella familiare, dato che esiste una possibile predisposizione genetica (polimorfismi genetici) e dalla gestazione del paziente (la madre ha fatto cure odontoiatriche durante la gestazione? per esempio). Prosegue con una attenta anamnesi lavorativa, dando importanza alla possibile esposizione cronica a xenobiotici o a episodi pregressi di esposizioni acute. Naturalmente non devono essere trascurate tutte le malattie di cui il paziente è portatore. La presenza di allergie inalatorie naturalmente orienta in tal senso la diagnosi, ma se le crisi non sono strettamente correlate, come tempi e sintomi, all'allergene, non è possibile escludere la MCS. Nell'anamnesi si deve dare importanza anche alle cure odontoiatriche, alla presenza di tatuaggi, ad interventi ortopedici con presenza di protesi, viti od altro materiale. Inoltre si deve dare importanza alle malattie infettive intercorse, che possono avere influito sul modo di reagire dell'apparato immunitario (equilibrio Th1/Th2 tra i linfociti Th, nella MCS si avrebbe la prevalenza Th2). Ovviamente sarà importante annotare lo stile di vita (fumo, droghe, sedentarietà ecc.), l'alimentazione e le intolleranze alimentari, le reazioni avverse ai farmaci, le caratteristiche abitative (dando importanza alle ristrutturazioni ed al cambio di mobili, tende, tappezzeria ecc.).

A questo punto è importante raccogliere con attenzione l'elenco dei sintomi riferiti dal paziente in occasione delle crisi, i tempi di esposizione e l'elenco delle sostanze chimiche, odorigene e non, sia indoor che outdoor, che saranno molto utili per valutare nel tempo l'andamento della malattia, la tolleranza e gli effetti conseguenti alle terapie suggerite. Per fare questo di solito vengono usati dei **questionari**. **Il più usato è il QEESI**, ma usato oggi nella sua forma abbreviata secondo Fabig. Viene riferita una sensibilità del 95% ed una specificità dell'88%.

Nella prima parte il paziente viene chiamato a riferire la tipologia di sostanze che inducono sintomi, mentre nella seconda parte elenca i sintomi comparsi e la loro intensità. È importante aiutare il paziente a riferire solo sintomi reali, non impressioni o generici fastidi. Alla fine è importante chiedere quanto tempo ci vuole per ritornare alla normalità. Un punteggio tra 10 e 20 è da ritenersi normale, tra 21 e 30 è invece indicativo per una sospetta MCS.

La tipologia di sintomi presentati orienta poi verso gli specialisti da coinvolgere per escludere altre patologie, più o meno rare.

## QUESTIONARIO DELLE REAZIONI ALLE ESPOSIZIONI CHIMICHE

Questionario QEESI di Miller e Mitzel 1995 (modificato secondo Fabig)

<b>PARTE A: Intensità della sensibilizzazione ai prodotti chimici</b>				
Per favore indicare ciò che interessa	1	2	3	4
Ha avuto disturbi dopo l'esposizione a....	Nessuno	Si, moderato	Si, gravi	A
Gas di scarico diesel o benzina				1
Fumo di tabacco				2
Insetticidi				3
Vapori di benzina				4
Colori e diluenti				5
Detersivi per disinfezione, candeggio, pulizia bagni, pavimenti				6
Profumi o spray per ambienti				7
Catrame (fresco) o asfalto				8
Smalto per unghie, diluente per smalto, spray per capelli				9
Rinnovo mobilia, nuovi tappeti, tenda bagno, interno auto nuova				10

<b>PARTE B: Intensità del disturbo dopo l'esposizione a prodotti chimici (BSC)</b>				
Che tipo di disturbi sono sopraggiunti dopo l'esposizione ai suddetti prodotti chimici?	Nessuno	Si, moderato	Si, gravi	B
Dolori muscolari ed alle articolazioni				1
Irritazioni o infezioni alle vie respiratorie, congiuntiviti, riniti, tracheiti				2
Disturbi cardiaci e del ritmo cardiaco				3
Disturbi allo stomaco o nell'addome, gonfiori, dilatazione addominale, diarree, stitichezza				4
Alterazioni della capacità intellettuale, senso di vuoto, diminuzione della concentrazione, della memoria e di carenza decisionale				5
Cambiamenti di umore, nervosità, eccitabilità, irritabilità, tensione, attacchi di pianto e rabbia, perdita delle motivazioni				6
Problemi dell'equilibrio, sordità oppure formicolii (braccia/piedi), disturbi della vista				7
Emicrania o pressione craniale				8
Arrossamento, prurito o secchezza della cute				9
Disturbi delle vie urinarie, disturbi degli organi sessuali				10

All'anamnesi fa seguito l'**Esame obiettivo**, il più particolareggiato possibile, non trascurando l'esame ORL, quello della dentatura e del cavo orale (protesi con metalli ed otturazioni con amalgama) e quello neurologico (Test di Romberg, Mingazzini 1 e 2, riflessi ecc.) e rilevando anche i tender points per la Fibromialgia se presente dolore diffuso.

Dall'anamnesi e dall'esame obiettivo si dedurranno gli accertamenti e le visite specialistiche necessarie per escludere altre patologie non note al paziente e valutare lo stato di stress ossidativo e infiammazione cronica se sospettati.

## Esami importanti

Nel Consensus del 2019 sono suggeriti gli **esami del sangue di prima istanza per una valutazione preliminare da aggiungere ai consueti esami di routine che ogni medico suole prescrivere ( funzionalità epatica e renale, emocromo, assetto lipidico, funzionalità tiroidea, esami per malattie reumatiche se presenti sintomi)**:

**Elettroforesi proteica, Sodio, Magnesio, Zinco, CPK, Colinesterasi, VES, Proteina C reattiva, IgE totali, Interleuchina 2 recettore sierico, Cortisolo basale, Basotest su sostanza nota per reazione avversa.**

Viene sottolineata la necessità di una diagnosi differenziale con la Mastocitosi e la Porfiria per le modalità dei quadri clinici con cui possono manifestarsi.

**La Mastocitosi** (esistono 2 forme: cutanea e sistemica) è una malattia rara tumorale che interessa i mastociti del midollo osseo, che si riproducono disordinatamente e si diffondono in tutti gli organi. Generalmente è dovuta ad una mutazione genetica con la produzione di una proteina che stimola la moltiplicazione dei mastociti ed è presente soprattutto in bambini (forma cutanea) e negli adulti tra i 20 e 40 anni (forma sistemica). I sintomi sono correlati al rilascio di Istamina e sostanze istamino simili (prurito, vampate, diarrea, nausea, alterazioni pressorie, cefalea, artralgie, dolori ossei, nei casi più gravi sincope e shock anafilattico). Utili per la diagnosi sono il dosaggio nel sangue di **Istamina e Triptasi**. Deve essere differenziata dalla **sindrome da attivazione dei mastociti** che consiste in una aumentata e inappropriata attivazione dei mastociti senza proliferazione clonale, sostenuta forse da IgE allergene-specifiche, e che sembra possa essere scatenata da alcuni farmaci o fattori fisici, ma per quello che è dato sapere potrebbe essere anche stimolata dalla presenza di Xenobiotici. Anche in questo caso potrebbe esserci una predisposizione genetica che favorisca l'iper attivazione dei mastociti. **Nella Mastocitosi sistemica la Triptasi è costantemente elevata**, ma può esserlo anche in concomitanza di una crisi acuta nella sindrome da attivazione dei mastociti. I livelli di Triptasi serica aumentano bruscamente nel corso di qualsiasi shock anafilattico e si normalizzano nel giro di qualche giorno, mentre nella Mastocitosi permangono alti. La diagnosi di Mastocitosi deve essere confermata da biopsia cutanea o midollare.

**La Porfiria o meglio le Porfirie sono un gruppo di malattie metaboliche rare** dovute al deficit di uno degli enzimi della biosintesi dell'eme. Questo deficit provoca l'accumulo di sostanze chimiche dette porfirine nel fegato e nel midollo osseo. Le Porfirie vengono classificate in **epatiche o eritropoietiche**, a seconda della localizzazione principale dell'anomalia metabolica sottostante. Sono caratterizzate da sintomi neurologici (attacchi neuroviscerali) e da lesioni cutanee dovute a fotosensibilità o dalla combinazione di questi due tipi di manifestazioni. Si tratta di malattie curabili, ma con notevoli ritardi diagnostici per la loro rarità e per il corredo sintomatico variegato, con sintomi neurologici come confusione, ansia, allucinazioni, debolezza muscolare e stanchezza, parestesie, intorpidimento, sintomi gastrici come nausea e vomito, alterazioni della pressione arteriosa, palpitazioni e lesioni cutanee (vesciche, erosioni o ulcere) della pelle esposta al sole, in alcune forme cliniche. I sintomi si presentano per lo più con crisi, della durata di giorni, ma vi sono anche forme croniche. Questo breve riassunto spiega come potrebbero confondersi con la MCS e con tante altre patologie, dalle quali invece devono essere differenziate.

La sintesi dell'eme è un processo chimico sequenziale che richiede l'azione di 8 enzimi. La carenza di uno di questi enzimi interrompe tale processo, con conseguente accumulo nell'organismo dei precursori della porfirina. Dall'enzima carente dipende il tipo di precursore che si accumula. I precursori possono essere tossici. La diagnosi si avvale della misura delle porfirine e dei loro precursori nell'urina, nel sangue e/o nelle feci. Uroporfirine, coproporfirine e protoporfirine vengono quindi dosate su indicazione dello specialista e in caso di valori elevati è possibile fare la diagnosi. Per questa patologia, ove si sospetti, è meglio consultare un centro specializzato. Comunque le porfirine urinarie possono aumentare aspecificamente anche in caso di accumulo epatico di metalli pesanti.

## Nuovi esami usati per le allergie

Molto spesso, ascoltando la storia del paziente con MCS, viene richiamato alla mente il quadro clinico delle malattie allergiche, che quindi devono essere prioritariamente escluse.

Normalmente vengono effettuati l'esame delle IgE totali, detto anche PRIST, aumentate nelle allergie, ed il Prick test, cioè il test intradermico con allergeni inalatori e alimentari, che può documentare una **sensibilizzazione di Tipo I, cioè anticorpale da IgE**. Nel paziente con MCS però si dovrebbe usare al suo posto il **BDT, test di degranolazione dei basofili**, che può essere fatto cimentando il sangue del paziente con qualsiasi allergene (anche prelevato dall'ambiente e fornito al momento del prelievo, o più facilmente con allergeni standard). Rispetto al Prick test il BDT ha il vantaggio che, non venendo iniettata nell'individuo nessuna sostanza, si evita la possibile sensibilizzazione del paziente che, nel caso della MCS, è già molto complesso.

Anche il RAST test, cioè il dosaggio radioimmunologico degli allergeni nel sangue, è utile per individuare la presenza di IgE specifiche per alimenti ed inalanti, ma è ritenuto meno sensibile e quindi più adatto a confermare che sostituire gli esami precedenti.

Per quanto riguarda invece **l'allergia di tipo IV, cellulomediata**, non mediata quindi da Ig circolanti, ma da anticorpi adesi alla superficie dei linfociti T citotossici, di solito, per praticità nei reparti ospedalieri di dermatologia, si usa il Patch test, un test epicutananeo con applicazione di pannelli di cerotti, scelti in base all'anamnesi (pannello sostanze presenti nei profumi, sostanze usate in odontoiatria, sostanze di uso industriale ecc. ecc.). Ancora una volta questo esame non è adatto per il paziente con MCS perché il contatto potrebbe favorire una nuova sensibilizzazione del paziente verso varie sostanze. E' da preferire il **test di Trasformazione Linfocitaria, LTT**, soprattutto per quanto riguarda la sospetta allergia ai metalli (LTT- Metalli). Il test avviene sul sangue fresco del paziente, quindi senza contatto di allergeni con l'individuo. In alternativa al test LTT c'è il **Melisa Test per allergie ai metalli**, anche questo si fa come il test LTT direttamente sul sangue fresco del paziente.

**Il recettore di IL-2(IL-2R)** è una molecola presente solo su linfociti attivati dall'incontro con l'antigene. L'interleuchina 2 (IL-2) è una proteina della famiglia delle citochine e stimola la differenziazione e l'espansione dei linfociti e può agire solo se presente il recettore alla superficie delle cellule immunocompetenti. Il dosaggio del recettore aumenta in caso di AIDS, reazioni di rigetto dopo un trapianto, infezioni virali, linfomi, leucemie, malattie autoimmuni. È un indice di attivazione del sistema immunitario ed il suo aumento potrebbe essere l'indizio di una tempesta di citochine, cioè di una reazione immunitaria eccessiva da parte dell'organismo.

Anche la **Proteina cationica eosinofila** è un buon indice di allergia IgE mediata e di infiammazione. È una proteina rilasciata dagli eosinofili dopo la reazione antigene-anticorpo. In allergologia viene usata per monitorare l'asma bronchiale, perché si riduce con l'uso di cortisonici, indicando così il miglioramento dell'infiammazione.

## Esami usati per evidenziare lo stress ossidativo e l'infiammazione cronica di basso grado

Per quanto riguarda gli esami nello stress ossidativo, nel Consenso del 2019 questi esami sono indicati come analisi di secondo livello, ma io ritengo che siano molto utili già nella fase di inquadramento del paziente per 2 motivi: il primo per valutare la presenza e la gravità dello stress ossidativo e decidere l'integrazione o meno con antiossidanti; il secondo valutare nel tempo la variazione dei parametri per avere un riscontro della efficacia di quanto consigliato. Considero questi esami un buon monitoraggio di uno degli aspetti più importanti della malattia.

Gli esami sono: **d-ROMs test, BAP test, GLUTATIONE (GSH) e rapporto tra GLUTATIONE ridotto ed ossidato, 3NT (Nitrotirosina), 8OHdG, OMOCISTEINA, COBALAMINA, ACIDO FOLICO**. Nei capitoli relativi allo Stress ossidativo ed ai processi di metilazione è stato spiegato il senso di queste analisi.

Se la disponibilità economica dei pazienti e la presenza di laboratori conosciuti lo consente, è poi utile aggiungere le seguenti analisi:

#### **Vitamina A, Vitamina C, Vitamina E, Vitamina D, Licopene e Coenzima Q10.**

Queste analisi possono aiutare nella scelta degli alimenti ed integratori da suggerire, soprattutto per aumentare la riserva antiossidante dell'organismo.

Ugualmente utili per valutare globalmente il paziente sono gli esami relativi alla infiammazione cronica di basso grado (vedi il relativo capitolo) **PCR ad alta risoluzione, l'Interleuchina 1 e l'Interleuchina 6 ed i test di Lipidomica** (vedi il capitolo sulla infiammazione cronica di basso grado).

#### **Il Biomonitoraggio e il Monitoraggio ambientale**

Anche se di solito, essendo una malattia multifattoriale, non si può riuscire ad isolare una causa unica da rimuovere, ciò non esime il Medico pratico dal continuare la ricerca con esami del sangue e delle urine, cioè il Biomonitoraggio, o dell'ambiente, cioè il Monitoraggio ambientale. Così facendo è spesso possibile riscontrare un elemento scatenante importante che, se rimosso, determina un miglioramento sostanziale. Anche in questo caso è importante lasciarsi guidare dall'anamnesi e dall'esame obiettivo.

#### **Biomonitoraggio:**

- è possibile attraverso i laboratori che si occupano di Medicina del lavoro fare un esame del sangue o delle urine dei principali metalli pesanti: **Arsenico, Alluminio, Cadmio, Cobalto, Cromo, Mercurio, Nichel, Piombo**. Bisogna tenere presente che i metalli si depositano nei tessuti e quindi sarebbe più corretto fare l'esame delle urine dopo una chelazione. Purtroppo l'alta sensibilità del paziente con MCS può far sì che con la chelazione si scatenino nuove crisi, dovute alla movimentazione del metallo, che finirebbe poi in parte per ridepositarsi su altri organi e tessuti. Infine i metalli possono scatenare reazioni anche allergiche per cui possono essere di aiuto gli esami **LTT o Melisa test**.
- Sempre attraverso laboratori specializzati (molto difficili da trovare in Italia) è possibile dosare il **Glifosato nelle urine**. Questo accertamento potrebbe essere utile soprattutto in pazienti molto esposti a questo diserbante, che però poi finisce con contaminare molti alimenti. Lo IARC lo considera «probabile cancerogeno per l'uomo», l'EFSA non è d'accordo.
- Anche il dosaggio dei **PFAS** nel sangue o nelle urine, come pure di tutti gli interferenti endocrini è molto difficile in Italia (vedi il capitolo relativo).
- Altri esami come la ricerca dell'**allergia ai metacrilati** può essere utile, per esperienza, soprattutto nei pazienti con la sindrome della bocca urente, dato che sono presenti anche nel materiale odontoiatrico.
- Anche la **Celiachia** può dare talvolta, nelle forme più lievi, un esordio da adulti con sintomi strani, quindi può essere di aiuto fare il dosaggio degli **Ac. Antitransglutaminasi IgA e le IgA totali**.
- Ove fosse necessario documentare un'alterazione della barriera ematoencefalica si può procedere con il **dosaggio nel sangue della Proteina S-100**. Vedi il capitolo sulla Infiammazione cronica di basso grado al paragrafo Neuroinfiammazione.
- In certi casi, soprattutto se presente anche la Sindrome da fatica cronica, è importante escludere la **Malattia di Lyme da Borreliosi per la puntura di zecca**. Spesso il paziente trascura di riferire eventi come questo ed è sempre meglio chiedere espressamente se ci sono state punture di zecca, anche in animali conviventi. È una malattia multisistemica molto complessa, che, se trascurata, nelle fasi avanzate ha dei quadri neurologici variegati (ci sono dei centri specializzati di riferimento). Esistono anche delle **forme rare** con un quadro clinico **post-trattamento**, dopo una

cura antibiotica efficace, caratterizzato da sintomi come affaticamento, cefalea e problemi cognitivi.

La diagnosi, oltre dal quadro clinico iniziale con il caratteristico eritema, si fa con il test ELISA inizialmente, da confermare con l'IMMUNOBLOT (più sensibile). Questi test dosano gli anticorpi IgM anti Borrelia, presenti solo nella fase acuta, e **gli anticorpi IgG** che restano presenti per anni.

- Esistono **molte malattie virali** che sono sospettate di poter innescare i meccanismi patogenetici esposti precedentemente, soprattutto in individui con un quadro immunologico compromesso dall'azione tossica, per esempio, di metalli pesanti come il mercurio, o di altre sostanze xenobiotiche. Si ricercano talvolta quindi anche gli **anticorpi per Herpes Virus e per il Virus di Epstein bar** (responsabile della mononucleosi).
- Nel capitolo relativo al Microbiota sono elencate alcune analisi che potrebbero essere utili come la ricerca della **Zonulina sierica o fecale** e dell'**α1 antitripsina fecale**, per la **sindrome dell'intestino permeabile**, **Il test del Microbiota** può essere fatto attraverso **il sequenziamento genomico batterico** per la disbiosi **ed il test Metabolomico**, che ha un quadro molto esteso di possibilità diagnostiche.

**Il Monitoraggio ambientale:** non è compito del Medico eseguire delle misurazioni ambientali, ma nelle prime fasi di diagnosi è indispensabile farsi un'idea dell'ambiente in cui vive e lavora il paziente. Le sostanze tossiche che più frequentemente sono in causa sono le muffe, la formaldeide ed i metalli pesanti. Dal quadro clinico e dagli eventi scatenanti, tratti dalla storia del paziente, è possibile spesso trarre delle indicazioni da passare allo "specialista della casa" che saprà usare gli strumenti opportuni di misurazione, nei casi più intricati. Poiché è importante la collaborazione, consiglio la lettura del capitolo relativo alle misurazioni ambientali.

### Lo studio dei polimorfismi a singolo nucleotide

Le linee guida del Consensus del 2019 mettono la ricerca dei polimorfismi come esame di II livello e sono d'accordo, data la difficoltà ed il costo, ma ritengo che molto presto diventeranno un presidio prezioso per tutti i Medici ed è bene che ogni terapeuta, un poco alla volta, faccia la sua piccola esperienza, per comprendere più a fondo certe situazioni molto intricate. Per avere maggiori particolari vedere il capitolo relativo.

### La Tipizzazione linfocitaria

La lettura del referto dell'esame denominato Tipizzazione linfocitaria è cosa da specialisti, oncologi, ematologi, infettivologi, immunologi, perché nella sua globalità è estremamente complessa. I Colleghi Medici che si occupano di una branca delle Medicine complementari, La Micro Immuno Terapia, hanno ideato una sorta di rappresentazione grafica normalizzata del referto, tale da renderlo molto più comprensibile ed utile anche al Medico pratico, dopo un breve corso di aggiornamento di un paio d'ore. È così possibile valutare in tempo reale se l'apparato immunitario sia efficiente o in stato di ipo o iper attività, contribuendo a comprendere la situazione patologica del paziente.

### Le Visite specialistiche

A questo punto il Medico pratico avrà raggiunto un quadro abbastanza preciso della situazione e si orienterà verso le visite specialistiche indispensabili per dirimere eventuali diagnosi differenziali. Di solito gli specialisti che più frequentemente devono essere interpellati sono **l'Allergologo, l'Otorinolaringoiatra, il Neurologo, il Reumatologo, l'Odontoiatra, il Cardiologo e l'Endocrinologo**. Molti Odontoiatri si occupano attivamente della diagnosi e cura dei pazienti con MCS, soprattutto per la presenza di otturazioni con amalgama e protesi con metalli vari. Tutti questi materiali, corrodendosi per effetto della saliva, della masticazione e delle bevande calde, vengono alla fine ingeriti, assorbiti ed in alcuni casi possono passare la barriera ematoencefalica.



## La Terapia

Il primo e più importante caposaldo della terapia è **l'allontanamento da tutte le sostanze che possono scatenare la crisi**. Questo presidio è valido in tutte le fasi della malattia, ma molto più efficace se è possibile fin dall'esordio, in modo da evitare l'evoluzione della malattia, con la progressiva perdita della tolleranza alle sostanze xenobiotiche. Le fasi con cui si attua questo allontanamento ed i consigli necessari sono i seguenti:

- La prima fase consiste nella **Valutazione dell'esposizione**. Cioè nella individuazione di tutte quelle sostanze che provocano le crisi, sia negli ambienti chiusi, che in ambienti aperti, e quindi anche l'individuazione degli ambienti da non frequentare. Questo deve diventare una abitudine di vita. Con il termine di ambiente si considera anche il mobilio, le tende, la tappezzeria (anche delle automobili) e le abitudini (per esempio il fumo) di chi usualmente frequenta quell'ambiente. Nel caso iniziassero crisi anche a casa si dovrebbe provvedere a valutazioni ambientali. Attenzione però, talvolta l'ansia può far evitare anche sostanze o ambienti che presentano solo odori, magari forti o sgradevoli, data l'iperosmia spesso presente nel paziente. Bisognerebbe quindi dare peso più alla comparsa dei sintomi che alla comparsa dell'odore. Il paziente è quindi invitato a valutare con calma ed attenzione la differenza tra la sensazione sgradevole provocata da profumi ed odori e l'insorgenza dei soliti sintomi noti riferiti in occasione della visita.
- Fatto questo si passa al **Controllo dell'esposizione** e ciò si può realizzare in diversi modi, cominciando dal semplice evitare gli ambienti già conosciuti come pericolosi o le sostanze di uso comune che scatenano le crisi. Nel caso di crisi ripetute in ambiente domestico, indipendenti dagli abitanti, si può arrivare a suggerire il cambio di casa, che è il massimo che si possa fare, scegliendo un ambiente decentrato rispetto al traffico, lontano da industrie ed altre fonti inquinanti, in zona isolata rispetto alle abitazioni vicine, con ottimi standard abitativi della casa, raramente praticabile. Sono inoltre utili, soprattutto per gli spostamenti fuori casa e per gli imprevisti, le mascherine con filtri ai carboni attivi, che ogni paziente con diagnosi di MCS è indispensabile abbia sempre con sé, da mettere immediatamente in caso di crisi (FFP3 è la mascherina raccomandata), oltre naturalmente a fuggire dall'esposizione. Infine sono molto utili anche i depuratori con multi filtri, per la casa, l'ufficio e l'automobile (ci sono anche piccoli depuratori portatili). Le linee guida specificano come devono essere questi depuratori: in metallo e con non più del 3% di parti in plastica. Purtroppo costano molto ed occupano uno spazio non indifferente e quindi, pur consigliandoli, devo dire che spesso i pazienti traggono giovamento anche dall'uso di depuratori ambientali più economici, alla portata di tutte le tasche, anche se di plastica, purché di buona fattura, con ottimi filtri, e lasciati all'aria qualche giorno dopo aver tolto l'imballaggio. Per quanto riguarda il lavoro, è da suggerire che il depuratore sia sempre acceso, giorno e notte, dato che durante la pulizia dei locali vengono usati vari solventi ed igienizzanti. Per tale problema si può provare a concordare con gli addetti alle pulizie l'uso di detergenti ambientali già consigliati da pazienti con MCS (vedi il sito AMICA per la MCS). Questo tipo di detergenti è naturalmente da privilegiare anche in ambito domestico. Ci sono poi delle regole precise per le persone con le quali si viene a contatto, cioè niente fumo, profumi, dopobarba, ammorbidenti profumati, ma ovviamente ciò deve avvenire in una sorta di alleanza, con modi appropriati, per evitare una controproducente contrapposizione, sia al lavoro che a casa. Utile, dove è possibile, il telelavoro, che sarebbe una opzione importante, ma bisogna fare attenzione a

non vivere segregati. Nelle fasi iniziali della malattia l'obiettivo è il mantenimento di una buona qualità di vita, anche sociale.

- Una terza fase consiste nella **Supplementazione** con sostanze che sostengono l'organismo che, come in tutte le malattie croniche, viene sottoposto ad affaticamento per l'aumento del consumo di energia, necessaria per l'autodepurazione. La supplementazione di solito rafforza anche la risposta immunitaria e contrasta lo stress ossidativo. Si usano di solito vitamine (C, A, E, D, Gruppo B, Acido folico) e oligoelementi come il magnesio, il selenio, lo zinco, ed infine sostanze naturali, dette flavonoidi, contenute in misura maggiore in particolari alimenti, ma che si possono assumere anche come integratori. L'uso di queste sostanze, anche se contenute in integratori di libero acquisto in supermercati o tramite internet, deve avvenire in maniera armonica secondo regole che impediscano di abusarne, dato che come tutte le sostanze possono avere degli effetti collaterali. Per valutare lo stato dell'organismo può essere di aiuto la misurazione nel sangue di: Ferro, Acido Folico, Vitamina B12, rame, zinco, calcio, fosforo, sodio, potassio, magnesio, Omocisteina, e ciò è possibile presso tutti i laboratori anche a carico del SSN.
- Un altro elemento importante è l'**Alimentazione** che deve seguire le regole della normale dietetica, aggiornate alle più recenti acquisizioni. Per esempio è ormai riconosciuto da tutti nell'ambiente medico, che l'infiammazione cronica di basso grado, che è alla base di molti dolori muscolari e articolari (soprattutto nel paziente Fibromialgico), ma anche di irritazioni delle mucose, senza alterazione dei normali parametri di flogosi, è sostenuta, se non causata, dall'uso eccessivo di zuccheri raffinati, che dovrebbero essere completamente eliminati, soprattutto evitando le bevande zuccherate, oltre ai dolci. Inoltre, data la particolare sensibilità dei pazienti alle sostanze chimiche, che tiene costantemente impegnati i fattori di depurazione del corpo, è consigliato l'uso di cibi biologici, cioè coltivati senza pesticidi, per evitare ulteriori carichi. È infine importantissimo che la dieta sia la più varia possibile anche con carne e pesce magri. (Sconsiglio i prodotti alimentari a Km 0 della Zona rossa per inquinamento da PFAS. Vedi il capitolo relativo all'argomento). È una buona norma allegare alla relazione rilasciata al paziente delle schede con consigli dietologici per una dieta ricca di antiossidanti e con attività antiinfiammatoria. Questo tipo di dieta è un punto di partenza per migliorare le proprie conoscenze e mangiare in modo vario. Spesso nelle regioni più continentali è utile aumentare l'apporto di pesce, alimento spesso trascurato, soprattutto il cosiddetto pesce azzurro (alici, sardine, sgombri) perché ricco di Omega 3, acidi grassi polinsaturi che contribuiscono al buon funzionamento delle membrane cellulari.
- Un altro aspetto importante è l'**Attività fisica**. È consigliata una passeggiata ogni giorno di almeno 30-40 minuti con passo costante senza fermarsi. Ha molti vantaggi sulla muscolatura, migliora la resistenza insulinica, il metabolismo aerobico, la moltiplicazione dei mitocondri, la depurazione ecc. La frequentazione di palestre o piscine esporrebbe il paziente a nuove possibili crisi, dato che gli spogliatoi sono spesso lavati con disinfettanti ed i deodoranti abbondano.
- Il Microbiota sano è fondamentale, perché sembra che la Disbiosi, con alterazioni della permeabilità della parete intestinale, siano cause o concause di malattie come Fibromialgia, MCS e Sindrome della fatica cronica, perché provocano una infiammazione cronica di basso grado. Quindi si consiglia di fare 1-2 volte all'anno dei **cicli con probiotici** per riequilibrare la flora intestinale, soprattutto ove vi sia una patologia con sintomi gastro intestinali, o di agire sull'alimentazione.

- Nel Consensus del 2019 la sauna è considerata, assieme alla dieta ed all'attività fisica, utile per abbassare l'infiammazione cronica ed il carico tossico totale. Il calore aumenta la disponibilità di BH4 (tetraidrobiopterina), struttura simile all'ac. tetraidrofolico, cofattore che partecipa alle reazioni di ossidoriduzione, coinvolta nel circolo NO/ONOO. Io non ho particolare simpatia per la pratica della sauna, dato che può dare squilibri idro-elettrolitici, ma penso che se fatta oculatamente, misurando peso e pressione subito prima e dopo e reintegrando i liquidi persi in tempi brevi, non si vada incontro a problemi, ovviamente è da escludere nei pazienti ipotesi.
- Bisogna curare molto l'**aspetto psicologico** e ciò sembra veramente molto importante per poter avere una qualità di vita buona, nonostante la malattia. Sono da incoraggiare i **comportamenti filosofici o religiosi** che diano un senso profondo alla vita anche nei momenti di sofferenza. Restando invece nell'ambito più scientifico, oggi va molto di moda la **Mindfulness**, e tutti i praticanti ne sembrano contenti, ma bisogna trovare una guida esperta. Il fine ultimo penso sia riconciliarsi con tutti gli aspetti della propria vita, passati e presenti per godere di ciò che si ha, più che dolersi di ciò che manca, salute compresa. Purtroppo nei pazienti con MCS si riscontra spesso una rabbia profonda per la propria condizione, che si estrinseca sui familiari o i colleghi rei, e questo è vero, di non comprendere la loro situazione, dato che li vedono spesso in buone condizioni al di fuori della crisi.
- Alcuni terapeuti danno una particolare importanza all'azione del "Sistema limbico". Delle pratiche di **riprogrammazione neuronale**, basate sulla plasticità del SNC, ne parlo nel paragrafo relativo alla patogenesi della MCS e al Potenzimento a lungo termine, ci sono anche dei tentativi di riprogrammazione con agopuntura.
- **Tinture per capelli e smalto per le unghie** in una paziente MCS sono un pericolo potenziale e vanno evitati, anche se vengono usati prodotti propagandati come "naturali". I prodotti naturali sono per lo più estratti da piante che a loro volta assorbono dal terreno i nutrienti e talvolta anche sostanze inquinanti, come pesticidi, metalli pesanti o interferenti endocrini. Riguardo lo smalto per le unghie in molte marche possono essere presenti toluene, formaldeide, canfora e dibutil ftalato (DBP) (consentite entro certi livelli), tutte sostanze altamente tossiche se inalate, ed è molto difficile accedere alla esatta composizione prima dell'acquisto. Sono disponibili delle **applicazioni gratuite per smartphone e tablet, che aiutano a leggere le etichette dei cosmetici** e con le quali si potrebbe risalire, durante l'acquisto, alla composizione. Nella ricostruzione delle unghie vengono poi usati dei metacrilati che possono scatenare reazioni allergiche. Il fatto poi che lo smalto in gel venga rimosso con la fresa, invece che con il normale diluente, espone ugualmente la persona alla possibile intossicazione per inalazione della polvere finissima che si forma, e la mascherina forse non dà una protezione sufficiente.
- È importante raccomandare di continuare a **bere molto** durante la giornata sia fuori dai pasti che durante i pasti, meglio se circa 2 lt di acqua al giorno, perché è l'unico modo conosciuto per eliminare alcune sostanze, come i PFAS, che sono a lenta eliminazione renale.
- Poiché nella **polvere di casa** (ma anche dell'ufficio) sono presenti pollini, muffe, metalli pesanti, varie sostanze xenobiotiche, virus, batteri, tossine e parassiti, che, se inalati, possono peggiorare la situazione, è da raccomandare di rimuovere la polvere spesso con un panno umido e protetti da mascherine.

- In caso di una contemporanea **allergia alla polvere di casa**, che contribuisce a rendere più intricato il quadro clinico, la prevenzione consiste nell'allontanamento degli Acari, che si basa sull'uso di federe anti-Acario per cuscino e materasso, nell'evitare tappeti, tendaggi, moquette e carta da parati all'interno della abitazione, nel ventilare le stanze e mantenere un'umidità relativa dell'aria al di sotto del 50% e nel rimuovere spesso la polvere dai mobili usando uno straccio umido, oltre all'uso di depuratori ambientali.
- Poiché ci sono delle evidenze scientifiche che accostano l'iperosmia con il **reflusso gastro – esofageo** è bene allegare alla relazione finale una scheda preparata con i consigli e l'alimentazione anti reflusso.
- Per quanto riguarda la possibile **sensibilità ai campi elettromagnetici**, che talvolta si associa alla MCS, è da raccomandare comunque, durante la notte, di non avere vicino, nell'arco di 50 cm, apparecchiature elettriche accese (radiosvegliie, termocoperte, telefoni cordless e telefonini, televisori ecc. ecc.) e tale raccomandazione è valida anche per le ore d'ufficio.
- Le **stampanti laser con toner** devono essere distanziate di almeno 1 metro dalla postazione di lavoro ed è consigliato di far cambiare ad altri il toner, oppure di usare mascherine durante tale manovra. Anche l'uso di **caminetti o stufe a pellets** non è consigliato per l'inalazione di microparticelle ricche di elementi di varia natura. In ogni caso consigliare di evitare il carico e la pulizia di caminetti e stufe a pellets.
- I **tatuaggi** sono una delle fonti possibili di contaminazione da sostanze tossiche e metalli pesanti. Molti coloranti usati nei tatuaggi permanenti sono metalli. Sono da sconsigliare assolutamente.
- **Le muffe** sono spesso presenti negli ambienti casalinghi, visibili sulle pareti o nascoste in intercapedini aggiunte in occasione di ristrutturazioni. L'azione delle muffe può essere tossica, diretta o con tossine, o allergica. È bene valutare l'aiuto da dare al paziente e per tale motivo ho aggiunto agli "Appunti" un breve capitolo che può servire da guida, riguardo questo argomento.
- Ho tenuto per ultimo il problema delle **otturazioni odontoiatriche con amalgama**. La soluzione più logica sarebbe la rimozione in studi specializzati, in tempi brevi se sono presenti solo 1-2 otturazioni. Purtroppo è esperienza comune che anche negli studi dove viene fatto tutto a regola d'arte, l'assorbimento di mercurio aumenta in concomitanza dell'estrazione e ciò, in pazienti molto sensibili, anche se preparati da una chelazione antecedente e conseguente la rimozione, può scatenare forti reazioni. Non è possibile prevedere il tipo di reazione che la rimozione potrebbe scatenare. In caso di reazioni gravi è difficile pensare che il paziente sia disposto a ripetere più volte l'esperienza e d'altro canto rimuovere 1 sola otturazione con amalgama, se ve ne sono tante presenti, vuol dire aver rischiato di compromettere un buon percorso terapeutico per niente. Consiglio di suggerire la rimozione spiegando i possibili e momentanei peggioramenti ed indicando gli studi di Odontoiatri che conoscono il problema. Darei quindi tutti gli altri consigli per migliorare la situazione generale e deciderei assieme al paziente, in un momento successivo, la valutazione dei tempi e modi. Comunque è possibile sentire altri colleghi, come gli Odontoiatri che sono specializzati in questo.

## L'integrazione con Vitamine, Oligoelementi e farmaci

Per rinforzare l'apparato immunitario è consigliata l'**integrazione della Vitamina D** (da considerare un ormone con molteplici effetti, non solo sul metabolismo del calcio), che si può monitorare con il dosaggio in ogni laboratorio anche a carico del SSN.

Ci sono delle osservazioni cliniche sul **Destrometorfano** che ridurrebbe l'espressione clinica della fase acuta della MCS. Il Destrometofano è il principio attivo del medicinale "Bronchenolo tosse" sciroppo o compresse, 10 ml o 1 cpr. 3 volte die è la dose abituale. Nel paziente con MCS può essere usato come tentativo di cura dall'esordio della crisi fino alla completa risoluzione. Potrebbe essere usato anche come tentativo di prevenzione quando il paziente sa che verrà esposto a sostanze di varia natura, che possono scatenare la crisi. È un uso off label del farmaco, e quindi necessita di spiegazione da parte del Medico e consenso da parte del paziente, ma può essere acquistato direttamente in Farmacia come prodotto da banco.

Alcuni integratori sono particolarmente consigliati dal prof. Martin Pall, sfruttando l'effetto antagonista sui recettori NMDA, l'effetto antiossidante di alcune sostanze e la conseguente riduzione della produzione di Ossido Nitrico. Tra i rimedi che riducono l'attività dei recettori NMDA è indicato principalmente il **Magnesio**, da somministrare al mattino prima di colazione 200-300 mg (es. Magnesio Supremo 1 cucchiaino da caffè, controindicato se malattie renali o Blocco della conduzione Atrio-Ventricolare). La **Vitamina C** è un potente antiossidante ed antagonista dei recettori NMDA. Molti terapeuti la consigliano ad alte dosi, anche in flebo nelle fasi di riacutizzazione. Personalmente ritengo, in base a quanto esposto anche nel capitolo relativo, che il dosaggio più appropriato sia di 500 mg die, aumentabile ad 1 grammo die in caso di iperglicemia persistente, perché questa condizione inibisce l'entrata della vitamina nelle cellule (controindicata nella calcolosi urinaria da urato ed ossalati perché ne favorisce l'eliminazione urinaria). Tra gli antiossidanti indiretti sono sicuramente da tenere in considerazione la **Vitamina B12** (assieme a tutte le altre vitamine del gruppo B) e l'**Acido Folico**. Ovviamente il **Glutatione** è l'antiossidante per eccellenza, ma ha il difetto di essere scarsamente assorbito per cui è più opportuno somministrare il precursore **N-acetincisteina**. Nei pazienti con MCS portatori di polimorfismo GST sfavorevole (vedi il relativo capitolo) l'aumento dell'apporto di Glutatione non darà particolari vantaggi. Sono poi molto utili e consigliati l'**Acetilcarnitina** 500 mg 2 volte die, soprattutto in caso di sintomi neurologici ed il **Coenzima Q10** nelle sindromi neurologiche, cardiache e nell'astenia, per migliorare la performance mitocondriale. **Zinco e Selenio** (cofattori enzimatici) sono oligoelementi spesso presenti in integratori che hanno piccole dosi di varie sostanze antiossidanti (es. Lipoibeg R 1 cpr die) dove non manca mai la **Vitamina E** ed il **Licopene**, forti antiossidanti. I cicli con gli integratori non devono essere continuativi, tranne il magnesio se ben tollerato, ma di 2-3 mesi rivalutando il possibile miglioramento del paziente. Nelle neuropatie periferiche è molto usato l'**Acido alfa lipoico, ALA**, potentissimo antiossidante che può rigenerare il Glutatione ed altri antiossidanti. Gli **acidi grassi polinsaturi Omega3** sono importanti per la stabilità e la flessibilità delle membrane cellulari, soprattutto degli eritrociti, e possono essere somministrati con gli alimenti o con integratori. I **flavonoidi** sono più di 500 sostanze presenti negli alimenti con effetto antiossidante ed altri effetti peculiari caratteristici. Per il loro effetto antiossidante gli alimenti più consigliati sono i **Mirtilli**, che hanno anche un effetto anti aggregante e vasocostrittore, il **succo d'uva** con attività vaso protettiva ed il **the verde**, con effetto drenante ed anti invecchiamento. Questi alimenti, come pure la frutta in genere, contengono diversi tipi di flavonoidi. Altro flavonoide usato spesso con integratori è la **Silimarina** per il suo effetto epatoprotettore, disintossicante, facilitando la sintesi della SOD, superossidodismutasi. La **Quercetina** è un flavonoide ubiquitario che abbina la sua azione antiossidante ad un'azione anti orticaria perché agisce anche sui mastociti, riducendo la liberazione di istamina. L'elenco è infinito ed ogni terapeuta ha le proprie preferenze in base all'esperienza personale.

## Le terapie complementari

Un paziente così difficile come il portatore di MCS, è spesso prevenuto verso i medicinali in genere ed è facile che richieda un metodo di cura olistico. **Omeopatia ed Omotossicologia** possono quindi trovare spazio se praticate da Medici esperti consapevoli dell'importanza di fare una corretta diagnosi differenziale con esami validati. Oggi sta prendendo piede **la Biorisonanza**, un metodo di diagnosi e cura basato su apparecchiature in grado di misurare la diversa emissione di lunghezza d'onda (di onde elettromagnetiche) dei vari organi e, confrontandole con un vasto database, formulare la presenza di uno stato di benessere o malattia, o la presenza di sostanze tossiche di varia natura. La stessa apparecchiatura è in grado di emettere delle frequenze terapeutiche che vanno ad armonizzare quelle patologiche dell'individuo, curando il paziente. Ho conosciuto dei pazienti che hanno tratto beneficio, a momenti, da questo metodo di cura e quindi trovo interessante ciò che è alla base di questo nuovo modo di studiare il paziente e della cosiddetta medicina quantica. Come tanti colleghi sono in attesa di conferme, senza però avere elementi in più da riferire. Come nel paragrafo precedente ritengo importante che sia fatta una attenta diagnosi differenziale ed un confronto con altri esami validati. Chiedo scusa ai Colleghi che si occupano di questo tipo di medicina complementare se trovano la mia illustrazione del metodo troppo scarna o errata, ma spero apprezzino il fatto che per completezza dell'argomento l'ho citata. Infine è da menzionare anche la **Speleoterapia**, branca della Medicina Termale, consiste nella permanenza per 2 ore al giorno, con cicli di almeno 20 ore in ambiente sotterraneo (generalmente ex miniere riconvertite) per il trattamento dei disturbi a carico dell'apparato respiratorio, della MCS e dell'EHS (sensibilità ai campi elettromagnetici).

## ***Mineralogramma***

Il mineralogramma del capello viene generalmente effettuato su un campione prelevato vicino alla radice dei capelli, nella regione nucale, con modalità facili ed accluse nel "kit di auto prelievo e spedizione". Il metodo usato per la misurazione generalmente dovrebbe essere la spettrofotometria ICI- AES, che permette di rilevare le sostanze di cui è composto il capello. Il problema è relativo all'affidabilità di questo esame, messa in dubbio da studi autorevoli. Diversi sono i problemi che ne rendono dubbia l'attendibilità:

- raramente il laboratorio che si incarica dell'esame fornisce i dati relativi alla metodica usata, alle apparecchiature e soprattutto non c'è chiarezza sul metodo di interpretazione, che è variabile,
- altri problemi sono poi legati alla natura del capello e possono causare errori, come l'uso di tinture, decoloranti, shampoo, fissatori, lozioni varie ed anche il contatto atmosferico diretto del capello con inquinanti, come il fumo di sigaretta.

Il problema si amplia quando, oltre alla presenza dei metalli tossici, il referto acclude anche il dosaggio degli oligoelementi. Bisogna ricordare che l'esame è la fotografia della situazione del capello degli ultimi tre mesi e non rispecchia necessariamente la situazione di distribuzione degli oligoelementi e dei metalli tossici nell'organismo, anche se potrebbe essere simile. Quindi non può essere considerato un test di screening dello stato di salute del paziente, come purtroppo avviene talvolta da parte di terapeuti che studiano le correlazioni quantitative tra i vari oligoelementi del mineralogramma per dare una valutazione tipologica del paziente e suggerire integratori e dieta.

**Può servire il mineralogramma?** Potrebbe servire, ma solo come test tossicologico, se non viene preso come una verità assoluta e se si cercano delle conferme con test validati. Quindi riscontrare un valore molto aumentato di 1- 2 metalli pesanti, può essere di aiuto mentre non è di aiuto riscontrare l'aumento massiccio di tutti i metalli, anzi fa pensare ad un inquinamento del campione. Anche la presenza nell'esame di un'alterazione caotica degli oligoelementi può indurre a riflettere: potrebbe essere una contaminazione del campione, ma potrebbe anche far sospettare una tossicosi ambientale che abbia

sconvolto i normali rapporti. Il costo dell'esame non è eccessivo ma non è neppure banale, quindi è meglio preferire, dove sia possibile, i test validati.

## ***Metalli pesanti***

I Metalli pesanti sono composti, soprattutto cationici, in grado di formare dei complessi citoplasmatici intracellulari. Tra di essi si annoverano gli elementi in traccia, cioè quegli elementi presenti in concentrazioni bassissime, dell'ordine di mcg/Kg di peso corporeo, ma sono essenziali alla nostra sopravvivenza, come il Cobalto e il Ferro (il Cobalto è presente nella Vitamina B12, il Ferro nell'Emoglobina) ed i Metalli Pesanti propriamente detti, che sono tossici anche a basse concentrazioni come Cadmio, Mercurio, Cromo e Piombo. Hanno una spiccata affinità per i Solfuri e per tale caratteristica bloccano i gruppi sulfidrilici degli enzimi.

Ferro, Cobalto, Cromo, Rame, Manganese, Molibdeno, Selenio e Zinco sono quelli indispensabili.

Quelli tossici sono: Alluminio, Argento, Berillio, Bario, Bismuto, Cadmio, Mercurio, Nichel, Piombo, Stagno, Titanio, Tallio.

Arsenico, Bismuto e Selenio sono metalloidi.

Fonti di inquinamento dell'organismo sono l'aria, l'acqua, il cibo, i materiali odontoiatrici, i cosmetici le endoprotesi, le pentole, l'ambiente lavorativo. Dopo la penetrazione tendono a concentrarsi soprattutto nel cervello, fegato, reni e ossa. Penetrano nelle cellule usando proteine di trasporto aspecifiche che normalmente veicolano oligoelementi essenziali che possono venire così sostituiti. Cobalto, Nichel e Mercurio possono sostituire Magnesio, Calcio, Ferro e Zinco. Il Cadmio ha una spiccata tendenza a sostituirsi allo zinco.

**Azioni patologiche:** possono agire come **antagonisti di minerali organici**, provocare un aumento dei radicali liberi e **stress ossidativo** ed inoltre possono legarsi ai gruppi sulfidrilici di importanti enzimi, formando composti metallo-zolfo che **bloccano completamente l'azione catalizzante degli enzimi**, con conseguenti **mitocondriopatie** e **blocco della depurazione da parte degli enzimi collegati al Glutatione**. I ponti disolfuro (contengono gruppi sulfidrilici) sono responsabili della struttura terziaria di molte proteine. La struttura terziaria è costituita dal ripiegamento nello spazio della catena polipeptidica, che assume una struttura tridimensionale, quella biologicamente attiva (vedi proteine a dita di zinco nel capitolo sullo zinco). Attraverso questi meccanismi possono **indurre anche mutazioni del DNA, della sua trascrizione e della sua riparazione**, che avviene attraverso proteine zinco-dipendenti deputate a tali funzioni, con possibile effetto carcinogenico. Infine l'azione dei metalli sull'epitelio intestinale può essere causa della **"leaky gut syndrome"**, con vari meccanismi.

### **Accumulo di metalli nell'encefalo**

Il cervello è protetto dalla barriera ematoencefalica, ma le sostanze polari come gli ioni metallici passano per trasporto attivo cioè attraverso Trasportatori DMT1 (Divalent Metal Transporter), che regolano l'assunzione di metalli essenziali ma anche dei metalli tossici come Piombo e Cadmio. Le sostanze lipofile invece diffondono liberamente attraverso la barriera, come nicotina, alcool, Metilmercurio ecc. Esistono poi delle situazioni patologiche che, alterando la barriera ematoencefalica (vedi il paragrafo sulla neuroinfiammazione nel capitolo sulla Infiammazione cronica di basso grado), permettono il passaggio di molte sostanze. Inoltre i metalli pesanti sono responsabili della stimolazione dei recettori di membrana, come i recettori NMDA, innescando il ciclo NO/ONOO<sup>-</sup> scoperto dal Prof. Martin Pall ed illustrato nel paragrafo relativo alla patogenesi della Sensibilità Chimica Multipla, danneggiando i neuroni con lo stress ossidativo. L'accumulo di metalli pesanti (piombo, rame e manganese) nella barriera può danneggiare la

parete vascolare ed inoltre il sovraccarico dei metalli pesanti nel plesso coroideo (piombo) può alterarne la funzione pur non alterandone la permeabilità.

Purtroppo al giorno d'oggi non è così difficile incappare in una intossicazione cronica da metalli pesanti tossici. Ciò può avvenire per varie cause "ambientali", collegate alle abitudini di vita, all'attività lavorativa, all'alimentazione, ai materiali edili e di arredamento presenti nei locali dove si vive abitualmente, alle emissioni di inceneritori e fabbriche.

Come sempre in Medicina ambientale vale il concetto della genesi multifattoriale della patologia, salvo un avvelenamento da un unico materiale tossico a causa di una alta esposizione accidentale, ma è giusto ricercare sempre se vi siano elementi maggiormente presenti e quindi maggiormente responsabili.

Purtroppo i metalli, dopo l'assorbimento permangono poco nel sangue, perché si distribuiscono in tutti i tessuti, a livello intracellulare, occupando lo spazio di vari oligoelementi, in una sorta di Mimetismo, che ne rende molto difficile la ricerca. L'esame diretto nel sangue sarà positivo solo nei casi di avvelenamento acuto recentissimo o nel caso di un avvelenamento cronico persistente, giornaliero, come è più frequente riscontrare nelle situazioni professionali. Quindi l'esame diretto nel sangue e nelle urine, possibile soprattutto nei laboratori che supportano la Medicina del lavoro, rivela spesso valori nella norma, anche se una intossicazione cronica può aver determinato degli importanti carichi tossici cellulari. L'esame possibile per rivelare queste situazioni è l'esame dopo chelazione, nel sangue o meglio nelle urine, possibile attraverso l'aiuto di medici abituati a queste pratiche. La chelazione consiste nell'uso di sostanze che legano il metallo nei tessuti e lo trasportano nel sangue fino ai reni per l'eliminazione. È possibile che i metalli rimossi provochino dei disturbi, andandosi a depositare in altri tessuti, rene compreso, per cui è sempre doveroso riflettere bene prima di ricorrere a tale pratica, soprattutto in pazienti con alta suscettibilità ai tossici ambientali, come i pazienti affetti da Sensibilità Chimica Multipla. Molti terapeuti ricorrono al Mineralogramma del capello, esame poco considerato dalla Medicina ufficiale perché non completamente validato per vari motivi che espongo in un capitolo apposito. Riguardo ai cosiddetti valori normali dell'esame sierologico o urinario esistono 2 scale di valori, quella per i soggetti esposti durante l'attività lavorativa (con valori considerati normali più alti) e quella per i soggetti non esposti. Non vorrei dare un giudizio etico, ma trovo aberrante questa normale consuetudine.

Oltre alle esposizioni in ambito lavorativo, i più esposti sono i bambini perché per unità di peso mangiano e bevono e respirano 3-4 volte più degli adulti.

I danni che i metalli possono fare sono quindi collegati all'azione tossica, ma anche alla possibile **azione immunologica**. Possono scatenare **una reazione infiammatoria, con produzione di citochine** come IFN, IL-1, IL-6, TNF, e fattori di trascrizione come NF-kB. Possono **favorire reazioni autoimmunitarie** perché, modificando alcune proteine, suscitano una risposta anticorpale nei loro confronti. Infine determinano talvolta anche **allergie in soggetti sensibili**, soprattutto con reazioni allergiche di tipo IV, individuabili con il Patch test o con il test LTT o il Melisa test per i metalli (vedi il paragrafo sui nuovi test per le allergie nel capitolo sulla Sensibilità chimica multipla).

Per il Medico pratico, di fronte a quadri patologici complessi, infiammazioni croniche, stress ossidativo o mitocondriopatie è quindi importante chiedersi se sia possibile una intossicazione cronica da metalli pesanti, iniziando dai metalli usati in ambito odontoiatrico, dei quali il paziente è portatore da anni e che vanno incontro a corrosione e quindi ad un possibile assorbimento. In ambito odontoiatrico sono possibili anche dei test: il **test della saliva del mattino** per la ricerca di metalli, adatto per rilevare la corrosione, ed il **test della saliva dopo masticazione di chewing gum** adatto per rilevare l'abrasione.

Anche le protesi possono dare problemi, il **test di stimolazione con Titanio** (cimentando il sangue del paziente eparinato con il Titanio e dosando alla fine TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ .) può essere utile per stati infiammatori persistenti insorti dopo la protesizzazione. Nelle protesi c'è anche la possibilità che le particelle di **Cromo**



e **Cobalto** possano venire rilasciate nei tessuti biologici attorno alla protesi scatenando reazioni infiammatorie ed in casi rari, se assorbiti, anche neurotossicità.

Anche situazioni ambientali particolari, come per esempio l'uso di vernici, precedute da una sverniciatura con abrasione dei materiali ferrosi, potrebbe determinare la respirazione di piombo, usato come vernice antiruggine. Anche l'aria attorno agli inceneritori può essere più carica di metalli pesanti, soprattutto il Mercurio (anche in corso di cremazione dei cadaveri può esserci l'inalazione di Mercurio, se sono portatori di otturazioni con amalgama). Molte altre situazioni sono identificabili dall'anamnesi, anche se spesso è attraverso l'alimentazione che vengono introdotti nell'organismo.

Per quanto riguarda i danni renali da metalli pesanti è possibile leggere un interessantissimo articolo del Dott. Lentini dell'Ospedale S. Bassiano (digitare "Lentini danni renali metalli pesanti" su un motore di ricerca).

## ***Mercurio e amalgama***

Una delle principali fonti di intossicazione cronica da Mercurio è il composto, usato in odontoiatria conservativa per le otturazioni, chiamato amalgama. L'amalgama è costituito principalmente da mercurio con una percentuale del 40- 50% al quale si aggiungono poi altri metalli, principalmente argento, ma anche stagno, rame, zinco, non è presente il piombo. Per fenomeni di corrosione questa forma di mercurio inorganico può venire assorbito a livello intestinale ed inoltre, a causa soprattutto dell'uso di bevande calde, il Mercurio presente nell'amalgama può vaporizzare e venire assorbito a livello polmonare ed attraverso la lamina cribrosa, da dove, per via neuronale raggiunge direttamente l'encefalo. L'amalgama è un materiale odontoiatrico da restauro versatile, di poco costo e duraturo, ed è stato quindi usato a lungo ed ancora oggi vi è controversia riguardo i possibili danni all'organismo. Ovviamente conta anche il numero di otturazioni presenti in un individuo, ma dovrebbe prevalere il "principio di precauzione" ed essere completamente eliminato. Bisogna tener conto anche che il Mercurio può essere convertito dalla flora intestinale in Metilmercurio (forma organica), che in caso di alterata permeabilità intestinale ed assorbimento, supera la barriera ematoencefalica.

La presa di coscienza dei danni severi provocati da questa sostanza è avvenuta negli anni 50 quando a causa della "Sindrome di Minimata" morirono circa 500 persone. Minimata è una cittadina giapponese nella cui baia, per circa 20 anni, furono riversate scorie minerarie contenenti Mercurio che contaminò prima le creature marine e poi di conseguenza tutta la catena alimentare. Il Mercurio è quindi immesso nell'ambiente per la maggior parte da fonti naturali, per erosione delle rocce. Una grossa parte è però dovuta agli usi umani. È presente nella combustione del petrolio e del carbone, nell'industria della carta, delle vernici e come antimuffa. Viene usato in varie apparecchiature scientifiche elettriche come le lampade a vapori di Mercurio. È presente in batterie e viene usato da fotografi, intagliatori, gioiellieri.

La maggiore fonte di assunzione, per le categorie non a rischio, oltre alla presenza di otturazioni con amalgama, è sicuramente quella alimentare. Principalmente i pesci provenienti da zone dove il Mercurio è presente in piccole concentrazioni, ma viene assorbito sotto forma di Metilmercurio dalle alghe, che vengono poi mangiate dal plancton e dagli altri organismi più in alto nella catena alimentare, fino ai pesci più grossi come il tonno, lo squalo, il pesce spada. Tutti i pesci possono essere inquinati, ma più grosso è il pesce maggiore sarà il suo livello di inquinamento, ma ovviamente non tutto il pesce è inquinato.

Il Mercurio è un distruttore endocrino, interferente endocrino è il termine corretto, ma i danni sono importanti. Agisce anche a bassi dosaggi su varie ghiandole: pituitaria, tiroide, sugli organi produttori di insulina, estrogeni, testosterone ed adrenalina. Altera il sistema immunitario bloccando linfociti e macrofagi, favorendo quindi le infezioni batteriche e fungine. Come amalgama può dare anche sintomi

locali come infiammazione gengivale, del bordo della lingua e periorale. Alcuni lavori clinici dimostrano che persone con sovraccarico da Mercurio e da petrolio per cause ambientali sviluppano più spesso il Lupus Eritematoso Sistemico.

Il Metilmercurio può passare la barriera ematoencefalica e svolgere un'azione neurotossica mediante la reazione con proteine contenenti zolfo, selenio-proteine. Interferisce con i neurotrasmettitori GABA e Glutammato, provoca alterazioni del citoscheletro e stress ossidativo. Il cervello trattiene il Mercurio più a lungo per la difficoltà di autodepurazione.

I sintomi dell'azione del Mercurio sul Sistema Nervoso Centrale sono per lo più abbastanza vaghi, ma possono essere anche invalidanti: depressione, irritabilità, deficit di concentrazione, disturbo della memoria, tremori, cefalea, insonnia, astenia, cecità, neuropatia ottica, retinopatia, perdita d'udito, deficit comportamentali.

A livello cellulare, come altri metalli, ma con maggiore tossicità, determina una riduzione del potenziale di membrana del mitocondrio ed inibisce la catena respiratoria mitocondriale. Sempre a livello intracellulare reagisce con sistemi enzimatici come quelli del Glutazione, con i canali ionici, con i trasportatori ed altro. Urine e feci sono le principali vie di eliminazione del Mercurio inorganico e metallico. Tra le categorie più esposte sono ovviamente gli Odontoiatri. Nel momento della rimozione dell'amalgama il Mercurio presente può essere vaporizzato dalle frese usate e venire respirato sia dal paziente che dall'Odontoiatra e dai suoi assistenti. Per questo motivo esistono dei complessi protocolli di rimozione delle otturazioni con amalgama.

I principali sistemi di detossicazione dal Mercurio sono collegati agli enzimi del Glutazione (i polimorfismi a singolo nucleotide sono quindi importanti) ed all'azione delle Metallotioneine.

## ***Piombo***

L'assorbimento nell'organismo avviene attraverso le mucose dell'apparato respiratorio per inalazione, per assorbimento attraverso l'apparato digerente e attraverso la cute. L'intossicazione è più frequente nelle categorie professionalmente esposte. Oltre che nell'estrazione mineraria, può essere presente nella produzione ed uso di vernici, nella verniciatura di ceramiche, nella produzione e smaltimento di batterie, nella produzione ed uso di armi da fuoco. Le intossicazioni da cause extra lavorative riguardano la corrosione di tubature di piombo, la presenza di residui di alcuni pesticidi negli alimenti, l'inalazione di gas di scarico di vetture non regolamentari, la presenza di pallini da caccia non rimossi nel corpo. Ma l'ambiente può venire inquinato da residui di vernici, munizioni, batterie, giocattoli, scarichi di aziende non in regola e quindi i terreni inquinati possono inquinare gli ortaggi.

A livello cellulare inibisce l'azione di vari enzimi bloccandone i gruppi sulfidrilici responsabili della struttura terziaria. Inoltre si sostituisce al calcio in molte proteine calcio dipendenti. Passa il filtro placentare e la barriera ematoencefalica. A livello del Sistema Nervoso Centrale altera la pervietà del plesso coroideo inibendo la sintesi della Transtiretina, una proteina prodotta a livello epatico che trasporta gli ormoni tiroidei nel liquido cefalorachidiano. Blocca la formazione dei recettori NMDA e quindi l'azione del Glutammato provocando la morte neuronale.

Provoca la malattia detta Saturnismo con anemia per il blocco di enzimi responsabili della sintesi dell'Eme. Sono poi presenti le coliche saturnine per l'azione tossica diretta sulla parete intestinale, danni al Sistema Nervoso Centrale per alterazione vascolare ed edema cerebrale, con conseguenti tremori di tipo parkinsoniano, astenia, parestesie, demenza e polineuropatia periferica. Può causare nefropatie per

sclerosi tissutale, malattie neuro muscolari, gotta, ipertensione arteriosa, oligospermia, lesioni alle ossa ed alle cartilagini. La terapia consiste nella chelazione.

## ***Interferenti endocrini***

Costituiscono un folto gruppo di sostanze eterogenee esogene, attive sul sistema endocrino con danni talvolta rilevanti, tanto da essere chiamati anche **distruttori endocrini**. Interferiscono quindi in vario modo con le funzioni endocrine determinando problemi di salute, che possono essere trasferiti anche alla progenie.

Possono mimare l'effetto degli ormoni naturali, oppure influenzarne il trasporto e il metabolismo, legarsi ai recettori cellulari bersaglio degli ormoni bloccandone o esaltandone l'azione, possono infine interferire sull'asse endocrino che collega vari organi tra loro. Non tutti gli effetti sono chiari e vengono scoperti sempre nuovi danni provocati da sostanze usate a lungo perché ritenute quasi innocue.

La stessa sostanza può agire con vari meccanismi ed a dosaggi molto inferiori di quelli descritti in tossicologia. Lo studio degli effetti degli interferenti endocrini presenta spesso una criticità: gli studi epidemiologici si limitano a fornire dati relativi a una possibile associazione tra sostanza e patologia, non consentendo però di stabilire un rapporto effettivo di causa-effetto, perché nell'ambiente sono sempre presenti più elementi tossici che possono essere responsabili, da soli o assieme, delle patologie studiate. Questo gioca a favore degli importanti interessi economici collegati a queste sostanze di larga diffusione.

Possiamo dire che molte situazioni sono collegate ad un uso esagerato di grandi quantità finalizzate ad uno scopo preciso, come è stato il caso dell'uso dell'insetticida DDT per l'eradicazione della Malaria, oppure all'uso di diserbanti o fertilizzanti per preparare grandi appezzamenti di terreno alla coltivazione.

Attualmente però una grossa parte di questo gruppo di sostanze è presente in oggetti di uso comune e che hanno quindi una grossa diffusione.

Le sostanze legate all'uso esagerato come il DDT (oggi proibito nella maggior parte delle regioni del mondo) sono ancora presenti soprattutto dove la loro degradazione biologica è peggiore, cioè nelle zone fredde e poco esposte alla luce ed all'azione di agenti biologici, come la profondità dei mari, l'Artide e l'Antartide, l'alta montagna. Troviamo infatti una percentuale di ermafroditismo esagerata tra gli orsi polari, 1 su 50 in Groenlandia. Si accumulano soprattutto nei tessuti grassi degli animali abitanti in quelle zone come foche, trichechi, orsi polari, balene ecc.

### ***Xenoestrogeni***

Vengono così definite le sostanze ambientali che hanno una attività estrogenica intrinseca e che sembrano essere tra i principali interferenti della spermiogenesi. Hanno una lunga vita media, si accumulano anche nell'organismo umano nel tessuto grasso e, in caso di gravidanza, possono interferire nello sviluppo fetale provocando disturbi nella differenziazione sessuale, con malformazioni degli organi sessuali sia maschili che femminili. Come conseguenza si ha una modificazione epigenetica del fenotipo con possibile femminizzazione, modificazione del comportamento sessuale, oligospermia.

Altri distruttori endocrini possono essere responsabili di disturbi della funzione tiroidea, del sistema Immunitario, dell'osteogenesi, di alterazioni dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide. Alcuni sono probabili carcinogeni, altri interferiscono con l'apprendimento.

La varietà e l'elenco degli interferenti endocrini è vastissimo, tale da meritare un libro solo per questo argomento. Mi limiterò quindi ad alcuni aspetti relativi ad interferenti presenti in oggetti di grande diffusione, oltre al capitolo sui PFAS. Chi volesse approfondire può consultare il sito dell'Istituto Superiore di Sanità (<https://www.issalute.it/index.php>).

Con il termine **POP (acronimo inglese di Persistent Organic Pollutants)** vengono indicati gli **inquinanti organici persistenti**, cioè sostanze chimiche molto resistenti alla decomposizione e tra questi molti sono gli interferenti endocrini. La presenza di quantità minime di queste sostanze, ritenute quindi innocue per la loro esiguità, data la lunga persistenza ambientale, finiscono in realtà con il sommarsi, amplificando il rischio di intossicazione cronica.

Il seguente schema (1-6) è tratto dal sito <https://www.celvil.it/normativa/codice-simboli-plastica/> e serve per comprendere le sigle ed i numeri presenti sulle confezioni che contengono materie plastiche.

### 1. PET o Polietilentereftalato

Il PET è principalmente utilizzato per fini alimentari (bottiglie per acque minerali, bottiglie per bevande, bottiglie per altri liquidi alimentari), ma anche per palloni sonda, tessuti, bicchieri. Si tratta di un materiale molto leggero (circa 40 grammi per bottiglia da 1,5 litri), infrangibile e la sua composizione chimica lo rende riciclabile al 100% e in misura praticamente illimitata.

Il PET viene indicato con simbolo recante il suo nome all'interno di un cerchio o poligono esagonale, spesso con simbolo triangolare del riciclo, la cui variante prevede al suo interno la presenza del numero 1 (con o senza sigla).



### 2. PE o Polietilene

PE è la sigla che indica il Polietilene, una resina termoplastica ottenuta dalla polimerizzazione dell'etilene. In alcune occasioni, il produttore specifica se si tratta di PE ad alta densità (HDPE, PE-HD) o a bassa densità (LDPE, PE-LD), nel qual caso lo si può trovare indicato anche con il numero 2 o 4 a seconda che sia del primo o del secondo tipo, posti all'interno del simbolo triangolare del riciclo o all'interno del simbolo circolare.

A seconda della lavorazione, i prodotti finali possono essere, tra gli altri, contenitori per detersivi, nastri adesivi, fogli e film, bottiglie, tubi, giocattoli, contenitori degli yogurt, sacchetti (per la spesa, per l'immondizia e per surgelare i cibi), ecc.



### 3. PVC o Polivinilcloruro

PVC è la sigla del Polivinilcloruro, un'altra sostanza plastica riconducibile alla famiglia delle termoplastiche. A differenza dei precedenti, il PVC prende una consistenza gommosa: serve per produrre bottiglie, tapparelle e tubazioni, materiali per imballaggi, finte pelli, giocattoli, parti di automobili, nastro isolante, fili elettrici, ecc. Lo si può trovare indicato anche col numero 3 all'interno del simbolo triangolare del riciclo o all'interno del simbolo circolare.



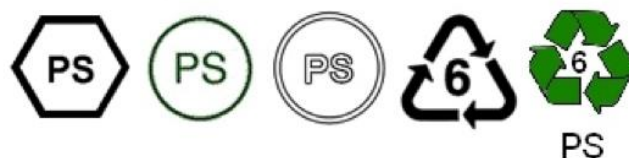
#### 4. PP o Polipropilene

PP indica il Polipropilene o Moplen, anch'essa parte della famiglia delle termoplastiche. Viene utilizzata per realizzare un altissimo numero di oggetti, tra cui contenitori, oggetti di arredamento e per la casa, flaconi per detersivi, giocattoli, siringhe ecc. Lo si può trovare indicato anche con il numero 5 all'interno del simbolo triangolare del riciclo o all'interno del simbolo circolare.



#### 5. PS o Polistirolo

Il Polistirolo o Polistirene è indicato dalla sigla PS ed è un ulteriore materiale termoplastico. Ottenuto quale derivato dal petrolio con aggiunta di pentano, ha un utilizzo specifico come isolante nelle costruzioni, così come protezione nell'imballaggio di merci e prodotti. Lo si può trovare indicato anche con il numero 6 all'interno del simbolo triangolare del riciclo o all'interno del simbolo circolare.



#### 6. Altri polimeri

Altri polimeri plastici generici vengono indicati col numero 7 all'interno del simbolo triangolare del riciclo o all'interno del simbolo circolare, con la dicitura "Altri" oppure "PI" che significa genericamente materiali poliaccoppiati: NON sono plastica, bensì accoppiamenti di materiali di diverso tipo non separabili, ad esempio carta-plastica, plastica-alluminio, carta-alluminio, tipici esempi di impiego sono i cartoni del latte, dei succhi di frutta, i famosi tetrapack, ma anche la carta dei salumi, del pollo arrosto, la confezione del caffè, alcune bustine per medicine ecc.

È importante segnalare che queste sostanze non sono riciclabili, e sono quindi da smaltire di conseguenza.



**Il PVC** è il materiale plastico più usato e da solo non è tossico, ma è rigido e per renderlo flessibile viene **aggiunto con Bisfenolo o Ftalati**.

**Il Bisfenolo A, BPA**, è presente in alcune materie plastiche (policarbonato), può essere presente nella classe 7 come policarbonato o resine epossidiche e nella classe 3 perché il PVC può contenere Bisfenolo A. Il Bisfenolo è quindi usato come involucro per alimenti, come rivestimento per gli scontrini, per la produzione di Biberon, bottiglie di plastica, rivestimento interno per lattine e scatole metalliche per la conservazione degli alimenti, viene usato anche in odontoiatria e per tanti altri prodotti. Mimica l'azione degli estrogeni ed è particolarmente tossico nel feto dove può provocare danni neurologici. Danneggia gli apparati riproduttori, agisce a livello cellulare sulla concentrazione del calcio, anche sulle cellule cardiache. In Europa è stato proibito per l'uso nei Biberon in policarbonato e nei cosmetici, ma l'EFSA ha concluso che i livelli di esposizione erano al di sotto della soglia di rischio.

**Gli Ftalati** sono ugualmente usati come ammorbidenti delle materie plastiche, soprattutto con il PVC ed impiegati nella fabbricazione di serramenti, pavimenti, rivestimenti per pareti, schiume di riempimento, ma anche giocattoli, biberon e bottiglie, nei saponi, nei contenitori per alimenti. Sono quindi diffusissimi anche se, soprattutto per i giocattoli ed i prodotti per l'infanzia, in Europa sono regolamentati, con limiti di concentrazione molto bassi, perché hanno un effetto simil estrogenico simile a quello del Bisfenolo, con possibili danni neurologici fetali, alterazioni dell'apparato riproduttivo maschile, tossicità epatica e renale. Possono indurre il Diabete e fenomeni di tipo allergico.

Dal 2022 sono in vigore nuove regole europee sulla restrizione e dismissione dell'uso di prodotti di plastica monouso non biodegradabile e non compostabile, per ridurre la dispersione delle microplastiche non biodegradabili nel pianeta, ma ciò non riguarda molti materiali contenenti interferenti endocrini, anche se a bassa concentrazione secondo le direttive europee. Non è da trascurare il mercato clandestino con i prodotti a basso costo provenienti da paesi che non prediligono la sicurezza. Per questo motivo e soprattutto per prevenire disturbi riproduttivi nella popolazione sarebbe utile seguire i seguenti consigli:

- prediligere giocattoli in legno o altri materiali naturali,
- acquistare i cibi freschi, evitando quelli in scatola,
- leggere le etichette dei prodotti acquistati, per accertarsi dell'assenza di ftalati,
- utilizzare vernici che non contengano composti organici volatili COV o VOC,
- non utilizzare i deodoranti ambientali,
- utilizzare detersivi e prodotti per la casa biologici,
- preferire i contenitori in vetro rispetto a quelli in plastica,
- evitare di usare pentole antiaderenti se hanno la superficie di cottura rigata o danneggiata,
- Usare, dove è possibile, la carta da forno per evitare il contatto dei cibi con le pentole durante la cottura.

È utile scaricare da Internet il **Decalogo\_MODIFICATO\_13032014\_finale(1).pdf** dove sono elencate le sostanze, la loro origine, gli effetti e come evitarne l'assunzione, redatto dell'Istituto Superiore di Sanità.

## ***Interferenti endocrini e Tiroide***

Più di 150 prodotti chimici, possono influire sulla funzione tiroidea, a causa soprattutto della loro somiglianza strutturale con gli ormoni tiroidei. La funzionalità della tiroide viene così influenzata a vari livelli.

La captazione di iodio da parte della tiroide viene ostacolata **da perclorato, tiocianato e nitrati** per inibizione competitiva. Il perclorato può inquinare la falda acquifera essendo presente in alcuni fertilizzanti, e quindi può contaminare il cibo ed essere ingerito. Nelle donne, oltre a danneggiare la tiroide può passare nel latte materno e contaminare i figli.

**Ftalati, PCB e Diossine** possono interferire con il trasporto degli ormoni tiroidei mediante competizione con la T4 per il legame alle proteine di trasporto.

**PCB, Diossine e BPA** possono interferire con le proteine di trasporto attraverso la membrana cellulare degli ormoni tiroidei.

I **difenil-eteri polibromurati (PBDE) ed il BPA**, presenti in prodotti industriali e di consumo, possono legarsi ai recettori degli ormoni tiroidei e causare tireopatie.

Anche tra i farmaci ci sono interferenti endocrini: **Amiodarone e Sali di litio** possono interferire con l'attività degli ormoni tiroidei.

Alimenti come la **soia** possono interferire con l'attività tiroidea.

## ***Altri interferenti importanti***

Non dimentichiamo poi che tra gli interferenti endocrini importanti ci sono quelli che derivano dal **fumo di sigaretta**. Sono il **benzopirene, gli idrocarburi aromatici policiclici** e il **Cadmio**.

Altri interferenti endocrini, importanti per la loro tossicità, sono quelli che possono essere **presenti nei cosmetici**. Sono stati trovati metalli pesanti, come Piombo ed Arsenico, nelle matite e mascara per gli occhi e Cadmio e Mercurio nei rossetti. Nelle ciprie ed in altri prodotti può essere presente il Bianco-Titanio. Sono tutti tossici e possibili cancerogeni e i limiti di legge imposti non possono essere considerati una garanzia di salute.

L'elenco potrebbe continuare all'infinito soprattutto tra gli interferenti sospettati di alterare la fertilità.

# Formaldeide

La Formaldeide,  $\text{CH}_2\text{O}$ , è un gas e fa parte della categoria dei VOC (composti organici volatili). Nel 2004 è stata indicata dallo IARC tra i composti del gruppo I (**cancerogeni certi**). È un prodotto della combustione (fumo di tabacco e altre fonti di combustione) ed è quindi un inquinante sia degli spazi esterni che degli ambienti di vita e lavoro.

È una delle principali sostanze volatili responsabili della **Sindrome dell'edificio malato** (vedi il capitolo sull'inquinamento indoor) perché può essere presente in tappezzerie, moquette, mobili in truciolato (contengono collanti con resine di urea-formaldeide con emissioni significative per lunghi periodi) ecc. e può provenire anche dall'esterno dell'edificio.

Può dare **sintomi locali** come irritazione di occhi, alle mucose delle vie respiratorie con tosse persistente, che si accentua soprattutto nelle ore di permanenza negli ambienti chiusi ed inquinati, come può essere la notte nelle camerette in truciolare dei bambini. Altri sintomi locali possono essere le dermatiti da contatto o le sindromi sensibilizzanti cutanee, soprattutto negli addetti ai lavori. Può dare **sintomi sistemici** come nausea o cefalea ed è anche un possibile **agente allergogeno** determinante asma bronchiale.

L'Aspartame è un dolcificante che dopo l'assorbimento viene convertito in Formaldeide in vari tessuti ed è talvolta causa di "Eemicrania da Aspartame".

Come per tante sostanze ci sono dei limiti di legge riguardo le emissioni ed anche i pannelli in truciolare devono essere certificati e sottostare alle normative del settore, ma la provenienza dei materiali potrebbe non essere certa ed inoltre vari materiali potrebbero sommare le loro emissioni. Comunque la suscettibilità delle persone, soprattutto alle sostanze volatili è molto varia.

Le misurazioni ambientali possono essere fatte dagli specialisti del settore, ma ci sono in commercio anche delle strumentazioni di basso costo, che potrebbero aiutare a comprendere il problema negli ambienti indoor, anche se non sono sensibili come le apparecchiature professionali. Ci sono delle strumentazioni usa e getta acquistabili anche su Amazon come il Biocheck F (Draeger), che permettono misurazioni con reagenti chimici o apparecchiature elettroniche con sensori.

Per ridurre o eliminare il problema da un ambiente bisogna ridurre le fonti di emissione (il fumo di sigaretta, le tappezzerie, i mobili ed i pannelli con truciolare con presenti resine di urea-formaldeide, le moquette), migliorare la ventilazione e ridurre l'umidità ambientale, che favorisce le emissioni.



# Le Muffe

Le muffe e i lieviti sono degli organismi appartenenti alla classe dei Funghi, ma mentre le muffe sono pluricellulari i lieviti sono organismi unicellulari. Si riproducono per mezzo di spore che disperdendosi nell'aria possono causare problemi di salute, soprattutto in soggetti sensibili. Possono causare danni alla salute attraverso reazioni allergiche o azioni tossiche. La maggioranza delle muffe sono saprofiti, molte sono in causa nell'inquinamento Indoor. Nelle abitazioni e negli uffici si formano soprattutto in presenza di alta umidità e scarsa ventilazione, su pareti più fredde, dove è più facile la condensazione del vapore. Spesso sono presenti, anche se non direttamente visibili, perché nascoste da intercapedini, controsoffitti, compost per i rifiuti organici. Sono quindi favorite dai materiali che non lasciano traspirare il vapore prodotto all'interno dell'abitazione.

## Reazioni allergiche

Possono causare patologie come Asma bronchiale, Rinite, Alveolite.

Le reazioni allergiche possono essere di Tipo I ed insorgono in pochi minuti per la presenza di anticorpi IgE, che determinano una reazione antigene anticorpo con attivazione degli Eosinofili. Possono venire diagnosticate attraverso gli esami IgE totali, Prick test, il Prick test, cioè l'intradermoreazione di specifici allergeni, ed il RAST, cioè il dosaggio radioimmunologico delle IgE specifiche attraverso la reazione con pannelli di allergeni più ampi possibile, riguardanti questi allergeni inalanti. Possono essere responsabili anche di allergia di Tipo IV o cellulosa mediata che insorge dopo diverse ore dall'esposizione ed infine possono causare reazioni allergiche di Tipo III, da immunocomplessi, ma solo in presenza di grandi quantità di allergene, quindi più rare e presenti soprattutto negli agricoltori, causando arteriopatie dei piccoli vasi sanguigni, dovute appunto ai complessi antigene anticorpo circolanti.

## Reazioni tossiche

Le muffe sono in grado di sintetizzare e rilasciare sostanze tossiche, **le micotossine**, che possono danneggiare la salute tramite l'ingestione o l'inalazione. Sono un ampio spettro di molecole, più di 300, tra cui le **aflatossine**, le **ocratossine**, le **fumonisine**, i **tricoteceni** e molte altre sostanze pericolose. L'aflatossina B1 colpisce il fegato ed è cancerogena e le aflatossine in genere colonizzano granaglie cereali e legumi e sono state ritrovate in farine, latte e frutta secca e quindi possono danneggiare l'organismo per ingestione di cibi altamente contaminati. L'ocratossina è prodotta dai funghi *Aspergillus* e *Penicillium* ed è particolarmente nefrotossica, colonizza soprattutto cereali, caffè, frutta e vino. I tricoteceni sono prodotti soprattutto da *Stachybotris* e *Fusarium* e provocano danni al sistema immunitario inibendo la fagocitosi macrofagica di particelle a livello polmonare. Il deossinivalenolo (DON o anche vomitossina) appartiene al gruppo dei tricoteceni ed è prodotto da funghi del genere *Fusarium*. Il deossinivalenolo è spesso presente nei vegetali, in particolare in cereali come frumento, mais, orzo, avena e segale e provoca vomito, diarrea e calo ponderale soprattutto negli animali nutriti con cibi contaminati con situazioni gastrointestinali di lunga durata.

In generale la tossicità delle micotossine risulta mutagena per alterazioni a carico del DNA, cancerogena ed immunosoppressiva. Possono indurre tossicità cellulare con calo di attività fino al punto di bloccare la

replicazione ed indurre la morte programmata. Un'esposizione cronica porta alla riduzione delle stesse difese immunitarie. Per esempio la gliotossina dell'*Aspergillus Fumigatus* agisce sulla risposta immunitaria dei granulociti neutrofili, paralizzandola. L'assorbimento delle micotossine e la loro successiva distribuzione negli organi dipendono dallo stato di salute dell'intestino e quindi possono dipendere dalla presenza di un Microbiota sano. Fortunatamente la pericolosità di queste sostanze dipende dalla dose assunta, ma per tale motivo si ripercuote soprattutto sui bambini, che sono quindi più vulnerabili agli effetti tossici.

La diagnosi riguardo una tossicosi da micotossine è estremamente difficile da sospettare e difficile da confermare anche se sono possibili test urinari delle micotossine con spettrometria di massa avanzata (MS / MS). È più facile, ed in taluni casi contemplata dai normali protocolli di conservazione degli alimenti, la ricerca della loro presenza nelle derrate alimentari.

Oltre alle micotossine le muffe producono anche **VOC** (Volatile Organic Compounds), miscele di alcoli aldeidi, idrocarburi ed altre sostanze tossiche che possono essere responsabili di cefalea, irritazione delle mucose delle alte vie respiratorie, stanchezza, e asma non allergica.

Nelle situazioni che potrebbero essere correlate al microclima ambientale è sempre utile suggerire al paziente una serie di accorgimenti che servono a ridurre la presenza delle muffe:

- L'umidità dell'aria dovrebbe essere meno di 60% (tra 40 e 60%)
- Aerazione adeguata: Il contenuto di aria dell'abitazione dovrebbe essere cambiato completamente circa sette volte al giorno! Si è visto essere utile effettuare una aerazione di 5-10 minuti più volte al giorno. Esistono impianti moderni di ventilazione forzata.
- In cucina si dovrebbe installare una ventola per convogliare l'aria ed il vapore all'esterno.
- Evitare una ventilazione permanente a "vasistas" e le situazioni che portano ad un eccessivo raffreddamento delle pareti, per evitare la condensa.
- Lasciare uno spazio minimo di 10 cm dalla parete su cui si poggiano i mobili.
- Riscaldare le camere in modo uniforme per evitare la condensa in quella più fredda e per lo stesso motivo non usare umidificatori, non stendere la biancheria in casa e non spegnere il riscaldamento del bagno in inverno.
- Non usare colori o carta da parati che non lascino traspirare le pareti.
- Svuotare spesso i bidoni ed i contenitori di rifiuti organici
- Nel bagno dopo la doccia aerare in modo particolare.
- Lavare e pulire periodicamente i filtri delle ventole di depurazione.
- Talvolta sono necessarie delle misurazioni ambientali da parte di un "professionista della casa" (vedi il capitolo relativo alle misurazioni ambientali). Esistono comunque dei Kit fai da te: aprire Amazon Italia e caricare Healthful Home- Rilevatore di muffa in 5 minuti (*Aspergillus*, *Penicillium* *Stachybotrys*).

## ***Particolato (polveri sottili)***

(Premessa: micron termine improprio usato per indicare un'unità di misura, con simbolo  $\mu$ , coincidente con il **micrometro**, unità di misura della lunghezza (con simbolo  $\mu\text{m}$ ) pari a un milionesimo ( $10^{-6}$ ) di metro)

L'insieme delle **polveri totali sospese in aria** è composto da fibre, particelle carboniose, metalli, silice, inquinanti liquidi e solidi.

Sopra i  $10\ \mu\text{m}$  di diametro vengono definite **particolato grossolano**, che è meno dannoso perché difficilmente supera la laringe. Inoltre essendo più grande e più pesante, la particella si deposita prima nell'ambiente e si diffonde meno. Le particelle che invece sono più importanti sono le **PM 10 (PM=particulate matter = materiale particolato)**, cioè le **particelle con diametro uguale o inferiore a  $10\ \mu\text{m}$** . Essendo più piccole e meno pesanti si diffondono più lontano nell'ambiente e penetrano più in profondità nell'albero respiratorio. **Tra i  $10$  e i  $2,5\ \mu\text{m}$ , cioè le PM 10**, sono trattenute dalla trachea e dai bronchi più grossi, che possono espellerle con il meccanismo della tosse. Mentre **le PM 2,5 cioè le particelle tra i  $2,5$  e  $1\ \mu\text{m}$**  raggiungono i bronchioli dove possono essere movimentate dal movimento ciliare delle cellule bronchiali. **Le PM 1 cioè quelle con diametro inferiore a  $1\ \mu\text{m}$**  raggiungono gli alveoli polmonari dove, a seconda del materiale che le compone, possono accumularsi o venire incapsulate da materiale organico suscitando la reazione infiammatoria locale con la formazione di granulomi. **Le particelle più piccole con diametro inferiore a  $0,5\ \mu\text{m}$  possono superare la parete alveolare ed entrare nel torrente circolatorio suscitando l'infiammazione della parete dei vasi, con attivazione della fibrina, e malattie cardiovascolari, oppure diffondersi a tutti gli organi, soprattutto gli emuntori come fegato e reni.** Quindi i danni maggiori delle polveri sottili sono a carico dell'apparato respiratorio e cardiovascolare, ma, poiché la loro composizione è molto varia, un altro problema importante è la cancerogenicità. **Nella classificazione IARC sono nel gruppo uno, cioè cancerogeno accertato.** Un altro grosso problema del particolato è che queste particelle sospese nell'aria possono veicolare virus e batteri e poiché, come abbiamo visto, possono dare infiammazione, con riduzione quindi delle difese immunitarie, contribuiscono a renderci più recettivi alle infezioni delle vie respiratorie.

Il particolato si forma soprattutto all'esterno dell'abitazione, ma se la ventilazione della casa è scarsa può ristagnare pericolosamente anche all'interno. Abbiamo visto che le sostanze che lo compongono sono le più disparate, ma sono principalmente il frutto dei processi di combustione, come i motori a scoppio delle auto, il riscaldamento delle case, maggiormente se da combustibili come legna o pellet. Contribuiscono poi i prodotti di emissioni degli inceneritori, anche se la legge impone regole severe sui filtri dei termo convertitori, ma potrebbero non funzionare o non essere impianti ufficiali, favorendo l'eliminazione dei rifiuti attraverso la combustione a cielo aperto (terra dei fuochi). Anche il traffico urbano, oltre alla combustione, contribuisce attraverso l'usura delle parti meccaniche, come freni e pneumatici e, vicino alle ferrovie, l'usura dei binari e del materiale veicolante. Ancora altre cause di particolato possono essere i cementifici, le fabbriche, gli impianti di riciclo dei rifiuti e gli incendi boschivi. Nelle case il particolato può essere prodotto dal fumo di sigaretta e dai processi di combustione con camini e stufe, ma per lo più proviene dall'esterno. Tanto più alta è la temperatura di combustione tanto più piccole sono le particelle liberate nell'ambiente e quindi più dannose. Per quanto riguarda la composizione avremo nelle città soprattutto un particolato carbonioso, per i processi di combustione. Altri tipi di particolato possono variare a seconda delle zone e delle caratteristiche locali. Anche l'aerosol marino entra a far parte del particolato, rivelandosi particolarmente corrosivo per le strutture cementizie. Pericoloso per la cancerogenicità è il particolato ricco di asbesto di alcune zone.

Di solito per misurare la salubrità dell'aria si prendono in considerazione i seguenti fattori:

CO<sub>2</sub>, particolato PM 10 e PM 2,5, TVOC (concentrazione di composti chimici volatili), Formaldeide, temperatura e umidità. Il particolato è tenuto sotto controllo dalle centraline dell'ARPA regionale che pubblicano un bollettino con l'andamento settimanale.

Le norme che regolano la presenza ambientale sono stabilite dal D. Lgs 155/2010:

- PM10 media 24h non superiore a 50 µg/m<sup>3</sup>; questo valore non può essere superato per più di 35 volte all'anno.
- PM10 media annuale <40 µg/m<sup>3</sup>
- PM 2,5 media annuale <25 µg/m<sup>3</sup>

Se questi valori non vengono rispettati, gli organi preposti intervengono con il blocco del traffico o la sua limitazione e l'ordine di abbassare la temperatura nelle case. A livello domestico l'uso di depuratori, il miglioramento della ventilazione ed una accurata scelta dei materiali possono essere le soluzioni adatte. Ci sono ditte specializzate nelle misurazioni ambientali e nella scelta dei materiali e delle soluzioni.

Quanto segue è la presentazione di un intervento che mi è stato chiesto da una associazione di costruttori in occasione di un corso nel 2021. La allego perché è un breve estratto dei seminari frequentati durante i Corsi di Medicina Ambientale Clinica tenuti dal dott. Antonio Maria Pasciuto, e dà una idea di quanto complesso sia questo argomento.

## ***Inquinamento indoor***

### **SALUTE E INQUINAMENTO e la Sindrome dell'edificio malato**

Ci sono molte definizioni di salute, ma alla fine, per ciascuno di noi, la salute è **uno stato di benessere collegato all'assenza di malattie.**

Quindi per la maggior parte delle persone **alla base del concetto di salute c'è sempre quello di malattia,** come di qualcosa che colpisce l'individuo, qualcosa di estraneo che entra e danneggia il corpo e quindi **toglie la salute.**

Ci aspettiamo quindi che qualcuno intervenga, sconfigga gli agenti patogeni e ci ridia la salute. Quindi il nostro compito è solo quello di rivolgerci al Medico. Così pensiamo.

Proviamo ad uscire da questo schema mentale. Partiamo dal presupposto che **ogni organismo umano abbia in sé la capacità di restare in salute, cioè di tenere lontane le malattie, attraverso dei meccanismi di difesa e di autoregolazione,** presenti soprattutto in ogni cellula umana. Ciò è logico, se pensiamo che i primi ritrovamenti dell'uomo sulla terra risalgono a 500000 anni fa e allora non c'erano certo né Medici, né medicine, e l'ambiente era più ostile.

# Nuova definizione di Salute

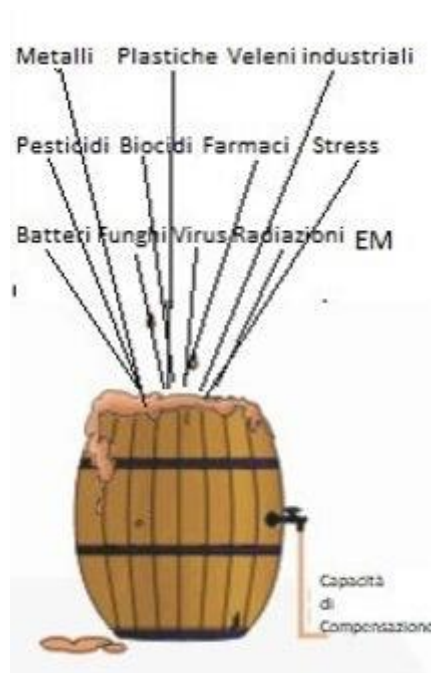
## Capacità di Compensazione

Salute = -----

### Fattori di disturbo

**Capacità di compensazione**= tutti quei meccanismi intra ed extracellulari in grado di contrastare gli agenti esterni potenzialmente patogeni.

**Fattori di disturbo**= sono tutti gli agenti potenzialmente patogeni che entrano in contatto con il nostro organismo.



Quindi la Salute dipende dalla relazione del nostro corpo con l'ambiente che ci circonda.

Quando i fattori di disturbo superano la capacità di compensazione dell'individuo compaiono i sintomi della malattia, ma ciò non vuol dire che la cellula, i tessuti e gli organi dell'individuo non fossero già in forte difficoltà, perché impegnati al limite delle capacità a contrastare una somma di fattori di disturbo.

Quindi succede che se in una situazione di equilibrio precario, subentra un nuovo fattore di disturbo, di qualsiasi natura (chimica, fisica, elettromagnetica, biologica, stress), il nostro organismo soccombe completamente e compaiono i sintomi della malattia, che possono essere i più disparati.

**La malattia collegata all'inquinamento deve essere considerata quindi come la conseguenza di un "effetto orchestra", cioè è sempre multifattoriale (eccetto ovviamente una intossicazione-avvelenamento-esposizione acuta ad una dose altissima di un agente patogeno).**

Ciò rende molto difficile la dimostrazione della correlazione tra la malattia e gli agenti inquinanti e soprattutto rende molto difficile la diagnosi e la cura.

La capacità di compensazione non è uguale per tutti, ma è condizionata a sua volta da **Fattori Genetici** e dalle modificazioni cellulari indotte proprio a causa dell'ambiente, cioè i **Fattori Ambientali**.

Ciò giustifica le ampie differenze di reazione tra i vari individui presenti in uno stesso ambiente.

Le donne incinta, i neonati, gli anziani ed i malati cronici sono soggetti più sensibili perché hanno una capacità di compensazione più bassa.

Se consideriamo che l'uomo trascorre la quasi totalità del proprio tempo (90%) all'interno di edifici, possiamo capire che l'attenzione all'inquinamento indoor è di primaria importanza dato che il rischio per la salute dipende dalla concentrazione (quantità per m<sup>3</sup>) e dall'esposizione (tempo di permanenza nell'ambiente).

All'interno della casa si concentrano sostanze volatili provenienti dall'esterno e tutta una serie di agenti inquinanti le cui fonti sono all'interno degli edifici.

La principale via di contaminazione è l'inalazione. L'assorbimento attraverso la cute può essere importante soprattutto negli addetti ai lavori, che maneggiano materiali edili o componenti dei mobili, anche se si dovrebbero usare sempre le adeguate protezioni. L'impianto idrico, anche se progettato e realizzato a regola d'arte, può essere talvolta fonte di inquinamento, soprattutto per effetto di fissurazioni delle tubazioni o corrosione, che facilitano la contaminazione dell'acqua, e ciò può avvenire soprattutto in abitazioni vecchie ed a seguito di ristrutturazioni particolarmente complicate.

## **MICROCLIMA**

Partendo da quanto esposto prima riguardo **l'effetto orchestra**, cioè la somma di tanti inquinanti che finisce con superare le capacità di compensazione, diventa fondamentale avere un controllo sul microclima che si forma all'interno delle case.

I principali fattori che condizionano questo microclima sono **l'umidità** che dovrebbe essere contenuta tra il 40% ed il 60 % e **la temperatura** che dovrebbe essere confortevole, in inverno di circa 20°C, un po' meno nelle camere. Molti materiali edili o usati per l'arredamento rilasciano sostanze volatili in determinate condizioni di temperatura e umidità.

L'elemento più importante da tenere sotto controllo è **la ventilazione**, cioè il ricambio d'aria proprio per evitare l'accumulo degli inquinanti indoor.

## **CONSAPEVOLEZZA**

Per affrontare un problema il primo passo è la consapevolezza dell'esistenza del problema e delle sue dimensioni.

- Esiste la consapevolezza, nel futuro proprietario della casa, dell'importanza del microclima e dell'inquinamento indoor? Allo stato attuale non sembra ed i ritmi di vita odierni non facilitano l'abitudine al ricambio frequente dell'aria. Quindi la progettazione ed i mezzi che facilitano il ricambio dell'aria sono molto importanti nella prevenzione delle malattie.

- Esiste la consapevolezza, nel Medico di famiglia, che la casa può essere fonte di malattia? C'è una consapevolezza, ma troppo vaga. Si sa che l'inquinamento è la sfida del futuro, a tutti i livelli, ma la mancanza di formazione e l'oggettiva difficoltà di diagnosi portano ad un atteggiamento passivo, quasi rassegnato.
- Esiste la consapevolezza nel progettista e nel costruttore? È presente l'idea che quella casa sarà abitata da donne incinta, bambini, anziani, malati cronici? I limiti di legge sono lo standard cui uniformarsi o la continua ricerca di materiali e progetti mi spinge verso limiti di emissioni tendenti il più possibile allo 0?
- Esiste la consapevolezza dell'auto esposizione al rischio inquinamento durante i lavori di ristrutturazione o costruzione di edifici. Conosco i materiali che sto rimuovendo? Il loro oggettivo pericolo? Le ditte produttrici mi mettono a disposizione una documentazione sufficientemente ampia? Sto usando correttamente le protezioni?

## ***Sostanze tossiche presenti negli ambienti indoor***

- ***Volatile Organic Compounds (VOC)***

Solventi: benzolo, toluolo, xilolo; IPA; alcoli; formaldeide e altri

- ***Microbiological VOC (mVOC)***

Prodotti del metabolismo di microrganismi (muffe, batteri...) Micotossine, Tossine batteriche.

- ***Pesticidi / Protettivi per il legno / Antimicotici***

per esempio pentaclorofenolo (PCP) e altri fenoli, bifenili policlorurati (PCB), lindano: vietato dal 1989.  
Sostanze subentrate: diclofluanide, tolifluanide

- ***Insetticidi***

per esempio piretroidi (Permetrina) Composti organofosforati come alchilfosfati (clorpirifos, parathionetile = E 605, ecc.), propoxur ecc.

- ***Inibitori di fiamma***

p. es. Esteri dell'acido fosforico, difenilettere poli bromato (PBDE): a vita lunga, bioaccumulabile, ad attività estrogeno-simile

- ***Ammorbidenti***

p. es. Ftalati: tra l'altro attività estrogeno-simile

- ***Composti organici contenenti stagno***: p.es. Tributilstagno

- ***Resine epossidiche***

- ***Isocianati***

- ***Metalli pesanti***: p.es. Nichel, antimonio, cadmio, cobalto, mercurio ecc.

• **Sostanze derivanti dal fumo di tabacco:** p.es. Nicotina, cadmio, mercurio, arsenico, formaldeide, ecc.

• **Emissioni da materiali “naturali”:**

*Sughero* (grandi differenze in base al Paese di origine ed alla lavorazione: emissioni microbiche come mVOC, per esempio dovute a muffe e/o batteri, terpeni, formaldeide, insetticidi, pesticidi)

*Linoleum* (qualità molto variabile a seconda dei componenti, con ammorbidenti, terpeni, emissioni microbiche come mVOC e prodotti di degradazione)

*Prodotti in pelle*, come divani, salotti. Nei prodotti di conceria troviamo metalli pesanti, come ad esempio il cromo, azo-coloranti, ammorbidenti, insetticidi, solventi, particelle in lattice.

*Prodotti per il legno* con emissioni, che variano in base al paese d’origine, di protettivi per il legno (pesticidi), formaldeide, terpeni, tutti prodotti che, con una certa frequenza, determinano reazioni di tipo allergico (tipo I e tipo IV).

### Fonte

### Sostanze

Cemento

PCB, cromo

Tegole

Diossina, furani

Isolanti

Asbesto, PCB, formaldeide

Tappezzerie

Clornaftalina

Materiale per legno

PCP, lindano, esaclorobenzolo

Mobili

Formaldeide, solventi, isocianati

Rivestimenti in pelle

PCP, cromo

Pavimenti

Solventi, PCB, esaclorobenzolo

Riscaldamento

Diossina, IPA, CO, NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>

Climatizzazione

Asbesto, microrganismi

Fotocopiatrici

Ozono

Video

E-smog, dibenzofurani

Disinfettanti

Aldeidi, solventi, biocidi

Umidificatori

Microrganismi, funghi

Prodotti per pulizia

Solventi, insetticidi (piretro)

Garage

Toluolo, benzolo, xilolo



## COME OPERARE DUNQUE?

- Riguardo la salute 2 sono le vie di azione: la prevenzione e la cura.
- Il settore dell'edilizia ha quindi una importante responsabilità soprattutto nella prima azione, mentre il Medico è chiamato in causa per la seconda azione.

### **La sindrome dell'edificio malato**

- Per quanto riguarda il Medico curante e le malattie ambientali, bisogna dire che la diagnosi è estremamente difficile, soprattutto perché, a causa dell'effetto orchestra, la sintomatologia è spesso molto vaga: per esempio cefalea, nervosismo, insonnia, formicolii, intorpidimenti, ansia, stanchezza persistente anche dopo il riposo, dolori vaghi diffusi. Questo contrasta con il normale modo di operare del medico che pone la sua ipotesi diagnostica riconoscendo la possibile malattia proprio dalla specificità dei sintomi.
- Esistono naturalmente anche quadri clinici più gravi, di solito determinati da quelle sostanze che definiamo Interferenti endocrini (meglio chiamati Distruttori endocrini), perché agiscono bloccando l'azione di ormoni importantissimi per la crescita, anche intrauterina, per la differenziazione sessuale e la capacità dell'organismo di difendersi dalle malattie infettive e dallo stress, andando a sconvolgere il normale metabolismo. Tutti gli organi ed apparati possono essere coinvolti, ma per quanto riguarda l'inquinamento indoor sono più interessate le alte e le basse vie respiratorie.

## **Come opera dunque il Medico di Medicina Ambientale Clinica?**

*Per prima cosa è importante porsi delle domande chiave di fronte a tutte le patologie che esulano dalla normale routine:*

- *La sintomatologia del paziente è compatibile con un inquinamento ambientale?*
- *La sintomatologia è iniziata dopo un cambio di abitazione, di mobilio, del luogo di lavoro, dopo una ristrutturazione edilizia, con la frequenza di ambienti nuovi (palestre, club ecc.)?*
- *La sintomatologia si manifesta sempre quando il paziente si trova in certi locali o edifici?*
- *La patologia cambia nettamente oppure scompare se il paziente si allontana dai luoghi abituali?*
- *Ci sono quadri clinici analoghi in altre persone che vivono nello stesso ambiente?*
- *In realtà questa ultima domanda, se la risposta è negativa, ne suscita un'altra: è possibile che il paziente sia più suscettibile del resto della famiglia? (variabilità individuale o possibili anomalie genetiche?)*

Naturalmente una attenta anamnesi, cioè la raccolta della storia del paziente, arricchita da questionari specifici per alcune malattie, orienta verso gli accertamenti da fare.

Si parte di solito dai Killer che sono più frequentemente in causa: MUFFE, FORMALDEIDE e METALLI PESANTI con delle misurazioni nel paziente, cioè **il Biomonitoraggio**.

Spesso si parte proprio da quelle sostanze perché possono essere monitorate più facilmente nel paziente, tramite laboratori accessibili, sia come vicinanza logistica, che come facilità di prelievo e costo accessibile.

È un fatto comunque che il Medico di Medicina Ambientale è sempre alla ricerca di laboratori in grado di fare analisi specifiche.

Se le analisi, direttamente o indirettamente confermano il sospetto diagnostico ci sono delle soluzioni generiche che comunque il Medico può somministrare al paziente:

- Allontanamento di tutte le sostanze che scatenano la sintomatologia
- Miglioramento della ventilazione nelle case o negli uffici
- Uso di depuratori ambientali
- Modificazione dell'alimentazione e dell'attività fisica per migliorare la capacità di compensazione.

### ***Il monitoraggio ambientale***

- La soluzione vera del problema, sia nella fase preventiva, che in quella curativa, non può prescindere da un ***monitoraggio ambientale***.
- ***oggi è importante per il medico potersi interfacciare con uno specialista della casa, cioè una persona che attraverso una metodologia ed una strumentazione validata, sappia individuare le sorgenti di inquinamento e contemporaneamente proporre le soluzioni specifiche.***
- ***È importante quindi una collaborazione tra conoscenze diverse.***

### **CONCLUSIONE**

- La qualità della vita, a tutte le età è l'obiettivo della società civile.
- Fino ad oggi si è pensato che la cosa più importante fosse vivere il più a lungo possibile ed è sembrato che il compito della Sanità fosse di dare anni alla vita.
- Oggi vediamo situazioni molto pesanti tra gli anziani ed i malati cronici che ci stanno portando a modificare il nostro atteggiamento. È più importante la qualità della vita e quindi il compito di tutti è **dare vita agli anni**.

Il monitoraggio ambientale non è un compito specifico del Medico perché non può prescindere da competenze e strumentazioni specialistiche. È quindi importante che il Medico di Medicina ambientale sappia consigliare il paziente quando è realmente indispensabile ed indicare degli specialisti competenti e preparati. Il più delle volte il monitoraggio ambientale è in relazione ad un inquinamento indoor. Il Medico, dall'anamnesi, dalla visita e dal monitoraggio biologico, può sospettare un inquinamento presente in un ambito frequentato quotidianamente dal paziente, come può essere l'abitazione o l'ambiente di lavoro. Per gli specialisti dell'ambiente sono comunque preziose le indicazioni del Medico di Medicina ambientale, per restringere il campo delle misurazioni e scegliere la metodologia più opportuna. Una prima misurazione della qualità dell'aria di un ambiente, di solito parte dalla valutazione dinamica, cioè durante un arco di tempo. Si misurano le Polveri sottili, la CO<sub>2</sub>, i TVOC, la Formaldeide, la temperatura e l'umidità, perché l'eccessivo isolamento delle abitazioni con serramenti sempre più sigillanti, per il risparmio energetico, abbinato alla diminuzione del ricambio d'aria, per il minor tempo passato dalle persone nelle abitazioni, favoriscono l'aumento della presenza dei fattori inquinanti. Esistono in commercio anche analizzatori di basso costo, che basandosi su questi parametri danno un facile giudizio sulla salubrità dell'aria. Ovviamente questi misuratori sono di scarsa sensibilità, ma possono trovare il loro impiego in una fase iniziale di educazione del paziente sulle caratteristiche ambientali e le abitudini di vita. Gli specialisti dell'ambiente sono dotati invece di apparecchiature molto sensibili, estremamente costose, ben conosciute nei loro limiti, nella loro opportuna taratura e nelle modalità di uso. Di solito vengono usati misuratori che valutano un singolo parametro perché sono più sensibili.

Seguendo le indicazioni ed i sospetti del Medico di Medicina ambientale, l'esperto decide, previo un sopralluogo, il tipo di monitoraggio. Facciamo quindi una rapida carrellata conoscitiva.

## **Le Muffe**

Le muffe possono agire sia come allergeni che come tossici per il paziente. Non sempre sono visibili ed in caso di sospetto devono essere ricercate basandosi sulle conoscenze delle tecniche edilizie dell'esaminatore, che, ove non fossero evidenti, cercherà soprattutto dove vi siano intercapedini non direttamente accessibili, come controsoffitti o rivestimenti delle pareti. In realtà già in sede di costruzione edilizia si dovrebbe tenere in considerazione la capacità igroscopica dei materiali. Più il materiale è igroscopico, cioè capace di assorbire l'acqua, più è difficile che sulla sua superficie si formino muffe e quindi tutti quei sistemi che riducono l'umidità ambientale, associati ai materiali igroscopici, riducono la possibilità della presenza delle muffe. Soprattutto nelle ristrutturazioni, sono molti i punti della casa dove è possibile il proliferare delle muffe. Quindi oltre alla valutazione dei parametri elencati precedentemente si può fare un esame mirato. Di solito si procede ad una aspirazione e filtrazione dell'aria su cartucce assorbenti, nelle quali vengono misurate delle sostanze chimiche. La presenza significativa di esanolo è caratteristica della presenza di muffe o funghi. Se questo primo accertamento è positivo, si passa all'esame microbiologico dell'aria, lasciando nelle varie stanze delle capsule di Petri per 24 ore. Queste vengono poi inviate nei laboratori di microbiologia, dove vengono sottoposte ad incubazione e poi misurate e contate le colonie presenti, identificando il tipo di muffa e la relativa carica. Possono essere approntate anche capsule di Petri con materiale proveniente da aspirazione di tappeti o moquette. Esistono, in Germania, dei kit casalinghi con le istruzioni per leggere i risultati ed individuare il tipo di muffa. Esistono infine dei "cani da muffa" certificati in centri di addestramento.

## **I Biocidi**

A questa categoria appartengono i fitosanitari, meglio definiti come pesticidi, i disinfettanti, i conservanti (per esempio del legno, dei tessuti, dei materiali di costruzione, della carta), gli insetticidi, i prodotti per la

disinfezione di aria, acqua e delle superfici, i prodotti per la conservazione di liquidi, i liquidi di raffreddamento, gli impermeabilizzanti, gli inibitori di fiamma, i metalli pesanti ecc. ecc. Per la ricerca di queste sostanze è importante analizzare la polvere. il campione di polvere viene trattato con toluolo, pulito ed analizzato.

## ***TVOC e Formaldeide***

Per la loro misurazione ci sono varie metodiche come la fotoionizzazione portatile che consente una misurazione solo quantitativa. Ci sono poi sistemi più sofisticati, ma molto costosi, come il sistema delle fiale colorimetriche, dove un flusso d'aria, prelevato con una pompa, interagisce con un reagente colorimetrico specifico per un determinato inquinante. Ma il più usato è il sistema di misurazione passivo, dove l'aria si deposita su speciali cartucce specifiche per idrocarburi, aldeidi ecc. ecc. Ci sono diversi kit e le cartucce vengono poi spedite in un pacco refrigerato ai laboratori di riferimento. Il kit viene posizionato a 1 ½ m di altezza, sospeso nei vari ambienti da analizzare.

## ***CO<sub>2</sub> e Particolato***

La CO<sub>2</sub> è un parametro importante, che nell'ambiente indoor deriva dagli esseri viventi che abitano i locali e varia molto nell'arco della giornata, mentre il particolato è più spesso proveniente dall'esterno. Entrambi vengono misurati con sensori elettronici.

# ***Principio di precauzione***

Il Principio di Precauzione è una norma in materia di sicurezza dell'ambiente che afferma che ove vi siano minacce di danno serio o irreversibile, l'assenza di certezze scientifiche non deve essere usata come ragione per impedire che si adottino misure di prevenzione della degradazione **ambientale**.

A seguito della **Conferenza sull'Ambiente e lo Sviluppo delle Nazioni Unite (Earth Summit) di Rio de Janeiro del 1992**, a cui parteciparono più di centottanta delegazioni governative da tutto il mondo, venne ratificata la **Dichiarazione di Rio**, una prima enunciazione del principio, poi ratificato nel **Trattato di Maastricht** sempre del 1992 per l'Unione Europea.

# PFAS IN BREVE

Sono sostanze perfluoro-alchiliche, una famiglia di composti chimici, acidi forti, resistenti ai processi di degradazione. Per moltissimi anni sono stati usati composti a catena lunga (8 atomi di carbonio) come PFOA e PFOS oggi sostituiti con PFAS a catena corta (6-4 atomi di carbonio) meno efficienti, ma molto meno inquinanti, perché persistono meno a lungo nell'ambiente.

Dove si usano: nella concia delle pelli, nel trattamento di tappeti e moquette, nella carta e cartone per uso alimentare, per rivestire le padelle antiaderenti (Teflon), in capi di abbigliamento tecnologico come impermeabilizzante (Goretex), ma anche in altre produzioni industriali come nelle schiume anti incendio, nelle pellicole fotografiche, nei detersivi per la casa, nelle pitture e vernici, in farmaci e presidi medici, per esempio ultimamente sono stati ritrovati in alcuni tipi di filo interdentale e sono presenti anche nella carta igienica, che, eliminata attraverso le fognature, contribuisce all'inquinamento ambientale.

Come vengono assorbiti: soprattutto attraverso l'acqua potabile inquinata ed i cibi contaminati. L'enorme falda acquifera delle zone pianeggianti del Veneto è quasi totalmente inquinata e quindi, sia i pozzi che l'acquedotto dove si utilizzava quest'acqua, hanno contaminato persone, animali e prodotti agricoli. Oltre che dall'acqua la contaminazione viene quindi dall'ingestione di prodotti alimentari contaminati. L'assorbimento per inalazione è possibile, ma rilevante solo per le categorie di lavoratori esposte (siti di produzione). L'assorbimento trans cutaneo è considerato irrilevante, possibile comunque nelle categorie esposte.

Assorbimento ed eliminazione: vengono rapidamente assorbiti attraverso il sistema digerente, veicolati da proteine nel plasma e trasportati a tutti i tessuti, specialmente negli organi più vascolarizzati, in particolare fegato e reni, dove si accumulano senza possibilità di biotrasformazione da parte dell'organismo (biotrasformazione= insieme di processi enzimatici che di solito accelerano l'eliminazione delle sostanze tossiche). L'eliminazione avviene solo attraverso i reni per gradiente di concentrazione ematica, ne consegue la permanenza nell'organismo per molti anni, infinita se non si interrompe l'introduzione. Il tempo di dimezzamento dura anni.

Meccanismi con i quali possono indurre malattie:

Esiste una similitudine di queste sostanze con gli acidi grassi che compongono **le membrane cellulari**. La presenza di queste sostanze nella membrana cellulare comporta una modifica della loro fluidità e degli scambi che avvengono tramite le membrane, anche attraverso l'interferenza con i recettori di superficie. La loro affinità con gli acidi grassi determina una alta affinità con le proteine di trasporto nel sangue e ciò spiega la diffusione a vari organi e le interferenze con altre sostanze che usano gli stessi trasportatori.

A livello epatico la modifica delle membrane cellulari degli epatociti potrebbe determinare una modifica del funzionamento dei recettori dell'insulina con riduzione della risposta e minore accumulo di glicogeno nell'epatocita. Questo è dunque un nuovo meccanismo conosciuto che, come altri, può promuovere l'Insulino resistenza periferica, che a sua volta è alla base di una serie di fenomeni come l'ipercolesterolemia, l'aumento della pressione arteriosa, la comparsa di Diabete mellito nei soggetti predisposti. L'Insulino resistenza è la condizione clinica alla base della Sindrome metabolica. Secondariamente all'Insulino resistenza vengono attivati fenomeni patologici come l'infiammazione cronica di basso grado, correlata all'attività degli adipociti iperplastici per dell'attività dell'insulina e di conseguenza è possibile l'attivazione dei meccanismi dello stress ossidativo.

È dimostrato un aumento delle transaminasi secondario ad intossicazione cronica da PFAS.

A livello della **membrana cellulare delle piastrine** l'alterazione indotta dai PFAS potrebbe determinare una alterazione della fluidità delle membrane con aumento dell'aggregazione piastrinica (dimostrata in vitro). Questo possibile meccanismo potrebbe essere considerato con alta probabilità un nuovo fattore di rischio trombotico e potrebbe sommarsi a quelli già conosciuti: l'alterazione dell'endotelio vascolare causato da vari fenomeni infiammatori e dallo stress ossidativo, che determinano una alterazione dell'attività vasodilatatrice dell'ossido nitrico. Ma vi sono altri molteplici meccanismi in causa.

A livello delle **membrane cellulari cerebrali dei neuroni dopaminergici** i PFOS potrebbero alterare la fluidità soprattutto se agiscono sulle cellule in fase di maturazione, quindi nel periodo fetale, e quindi determinare anomalie congenite del Sistema Nervoso Centrale. Nelle popolazioni esposte sono documentati l'aumento di deficit cognitivi, demenza, M. di Alzheimer e disturbi dell'attenzione.

A livello delle **membrane cellulari degli spermatozoi** è documentato sperimentalmente un forte accumulo nei soggetti esposti, con alterazione della fluidità e dei potenziali di membrana. A tutto ciò può corrispondere un calo della motilità e della fertilità.

**I PFAS possono legarsi poi, in tutte le cellule, ai recettori del Testosterone** riducendo l'attività di questo ormone del 40%. Ciò può determinare alterazioni soprattutto nei giovani concepiti e cresciuti nelle zone esposte. L'attività anti androgenica dei PFAS si manifesta soprattutto nel periodo embrionale, ma la conseguenza della riduzione di attività del Testosterone può avere anche ripercussioni durante il periodo adolescenziale.

**I PFAS possono interferire poi con il metabolismo della Vitamina D** legandosi al recettore citoplasmatico della Vitamina D riducendone l'attività. Come conseguenza più evidente ci può essere la riduzione della densità ossea, ma sappiamo che la Vitamina D è un ormone che agisce a vari livelli, anche sull'apparato immunitario e quindi le ripercussioni possono essere varie.

**Azione antagonista del Progesterone.** I PFAS possono legarsi ai recettori del progesterone a livello endometriale inibendone la funzione. Ciò può determinare infertilità, facile abortività e nascita di neonati sottopeso. Il progesterone è considerato l'ormone della gravidanza perché promuove le trasformazioni dell'endometrio che favoriscono l'annidamento dell'embrione e il suo corretto sviluppo.

#### **Malattie correlate da tenere in considerazione dove sia accertata o sospettata una intossicazione cronica da PFAS**

**Malattie tiroidee:** possono interferire con il metabolismo dell'ormone T4 legandosi alla sua proteina di trasporto e quindi spiazzandolo e favorendone l'eliminazione.

**Ipercolesterolemia:** si ritiene soprattutto per l'Insulino resistenza, ma potrebbero essere in causa anche altri meccanismi.

**Ipertensione e pre-eclampsia in gravidanza** sono possibili soprattutto nelle primipare prima della 20 sett. di gestazione; si ritiene principalmente per l'alterazione dell'aggregazione piastrinica.

**Calo della fertilità e della fecondità** attraverso la possibile azione sugli spermatozoi per quanto concerne i maschi e quella antagonista sul progesterone per quanto riguarda le femmine.

**Malformazioni dell'apparato genitale:** sono state dimostrate alterazioni correlate alla riduzione dell'attività del Testosterone durante la fase embrionale.

**Possibile difficoltà di identificazione sessuale durante l'adolescenza:** vi sono delle osservazioni da parte di Medici, ma è un argomento ancora da affrontare.

**Osteopenia ed osteoporosi:** possibile correlazione all'interferenza con il metabolismo della Vitamina D.

**Possibile riduzione dell'efficienza del Sistema immunitario:** esistono solo dati osservazionali, forse c'è correlazione con l'alterazione del metabolismo della Vitamina D. Sembra comunque che anche l'incidenza di casi Covid 19 nelle persone più esposte sia superiore alla media.

**Malattie autoimmunitarie:** per ora sembra che ci sia una correlazione solo tra **colite ulcerosa** ed esposizione ai PFAS (soprattutto dai dati relativi alla contaminazione in OHIO degli anni '50)

**Tumori:** c'è una possibile correlazione con i tumori del **rene** e del **testicolo**, da tenere in considerazione, ma deve essere studiata meglio.

## STORIA DEI PFAS

Il primo grande caso risale agli anni '50 e riguarda la valle dell'OHIO in America, con la contaminazione di circa 70.000 persone per l'inquinamento ambientale causato da siti industriali del gruppo "Dupont", coinvolto poi in una maxi causa di risarcimento. I primi studi, utilissimi ancora oggi anche come linee guida, risalgono a questo periodo.

In Italia la storia dell'inquinamento delle zone situate tra il vicentino, il veronese ed il padovano meriterebbe una lunga disquisizione, che però evito perché densa di contrasti tra la popolazione vittima dell'inquinamento e le strutture governanti preposte alla sorveglianza.

In breve nel 1999 l'Europa allerta tutti gli stati sul crescente pericolo di inquinamento soprattutto da parte di distruttori endocrini. Negli anni seguenti vengono studiati i vari bacini idrici ed individuate le zone più inquinate. Partendo da un iniziale rilievo di inquinamento del Po sono state individuate le aree italiane più inquinate, delle quali quella sicuramente più importante è l'area veneta corrispondente a molti comuni del Vicentino, Veronese e Padovano. Purtroppo solo nel 2013 anche per l'ampio movimento di sensibilizzazione operato da varie associazioni tra le quali l'ISDE (medici per l'ambiente), si comincia a percepire la gravità del danno per l'uomo, anche se le direttive dell'EFSA (autorità europea per la sicurezza ambientale) stabilirono a quel tempo valori ambientali di tolleranza falsamente tranquillizzanti, soprattutto se confrontati con i valori recenti stabiliti nel 38° Simposio internazionale di Cracovia. La Regione Veneto ha messo in atto un piano che prevede la messa in sicurezza dell'acqua potabile attraverso l'adozione di depuratori, ed oggi l'acqua degli acquedotti pubblici è praticamente quasi totalmente in sicurezza, ma è previsto che siano reperiti nuovi pozzi non inquinati dai quali attingere e sono già stati stanziati dallo Stato i fondi per le nuove condutture che dovranno portare l'acqua pulita agli acquedotti passando attraverso le zone inquinate. Inoltre tutta la popolazione delle zone cosiddette Rosse, cioè quelle contaminate, è sottoposta a controlli con esami del sangue, anche con dosaggio dei PFAS, ed i Medici di famiglia hanno accesso a questi accertamenti. Nel frattempo gli Ordini dei Medici di Vicenza e Verona nel 2017 hanno promosso una giornata di aggiornamento per i medici interessati, trattando tutti gli argomenti riguardanti i PFAS e i pazienti. Successivamente a ciò sono aumentati notevolmente gli studi sugli effetti dei PFAS nell'uomo e la possibilità di formazione dei Medici interessati. Resta purtroppo un grosso limite: il privato cittadino non può accedere a laboratori che testino se sia intossicato dai PFAS, cosa sicuramente molto probabile anche per persone che vivano in zone limitrofe a quelle contaminate, o che abbiano soggiornato in zone contaminate per lunghi periodi o che facciano abitualmente uso di prodotti alimentari delle zone inquinate (enorme problema che comincia ora ad essere monitorato).

Grossa è comunque la difficoltà dei medici di famiglia e dei pediatri nel valutare il comportamento adatto verso persone magari clinicamente sane, ma con valori altissimi di PFAS nel sangue, in particolare riguardo i periodi di gravidanza.

Da uno studio della regione relativo al 2017, nelle zone del Veneto esposte è stata rilevata una maggiore incidenza di morbilità rispetto alla media regionale:

Cardiopatía ischemica: 5% in più nei maschi e 6 % in più nelle femmine.

Malattie cerebrovascolari: 22% in più negli uomini e 18% in più nelle femmine.

Diabete mellito: 14% in più nei maschi e 16% in più nelle donne.

Iperensione arteriosa 22% in più sia negli uomini che nelle donne

Rischio di pre eclampsia 27% in più

Diabete gestazionale 44% in più

Nati piccoli 27% in più

Anomalie congenite di vario tipo 133%

Questi dati statistici sono ufficiali.

**Le seguenti indicazioni vogliono essere solo un lavoro di ricerca e di aiuto per tutti quei Colleghi che si trovano nella situazione di seguire pazienti in aree di esposizione ai PFAS.**

*Nelle zone contaminate e limitrofe, in base alla letteratura ed alle osservazioni in corso, si deve fare particolarmente attenzione ad alcuni aspetti.*

In un paziente già monitorato dalla Regione Veneto e quindi con esami già fatti:

PFOA sierico > di 8 nanogrammi gr. siero PFOS >di 14,8 nanogrammi gr. siero sono valori sicuramente patologici.

Attenzione: le raccomandazioni sono comunque valide per tutte le persone esposte a prescindere dai valori oggi considerati "normali", perché se da una parte è vero che piccole percentuali di PFAS sono depositate in tutte le persone, essendo un inquinante ubiquitario (POP), la risposta soggettiva è variabile e quindi il concetto di valore "normale" può diventare fuorviante. Inoltre sono sempre più presenti segnalazioni di come, anche se in misura minore rispetto alle aree di maggiore inquinamento, la presenza di PFAS nell'organismo determini comunque una maggiore incidenza delle patologie correlate.

Si parta quindi sempre dall'anamnesi con particolare attenzione ai pazienti già noti per: malattie tiroidee, ipertensione, ipercolesterolemia, sindrome metabolica, diabete mellito, malattie cardiovascolari, malattie cerebrovascolari, malattie degenerative del SNC, osteoporosi, infertilità, facile abortività, malformazioni genitali, problemi adolescenziali riguardo la sfera sessuale, gestosi gravidica, colite ulcerosa, tumori



soprattutto ai reni e testicoli. Si ricerchi sempre quindi con cura, anche nelle persone che non abitano nelle zone cosiddette Rosse, se hanno soggiornato nelle zone a rischio.

Ad ogni visita è bene considerare P.A., F.C., volume della tiroide ed introdurre periodicamente l'esame dei testicoli.

Esami periodici di routine: Creatinina e GFR, Uricemia, Microalbuminuria (danno renale), Glicemia, Hb glicata, Colesterolo totale, HDL, trigliceridi, LDL, AST, ALT. Inoltre TSH di base a tutti gli esposti.

Tenere presente che i PFAS vengono eliminati quasi esclusivamente per via renale e molto lentamente e che quindi, se la funzione renale è ridotta, la situazione è sicuramente più pericolosa.

#### TIROIDE:

Se TSH normale, cioè  $>2,7$  e  $<4,2$  valutare se: paziente già noto per malattia tiroidea ed in trattamento (eventualmente fare FT4), presenza di tireopatie autoimmuni nei familiari, eventuali terapie pregresse con radioiodio o terapie radianti, eventuali pregresse tiroideomie, eventuali eventi traumatici con disfunzioni o malattie dell'ipofisi, eventuale terapia con amiodarone.

Se TSH alterato con valori  $>4,2$ , ma anche per il paziente con le situazioni sovra esposte che riguardano la tiroide oppure in presenza di altre malattie autoimmunitarie, fare il dosaggio degli anticorpi antitiroidei anti tireoperossidasi TPOAc, e quindi se TPOAc positivi controllo TSH annuale, ogni 3 anni se negativi. Nessuna terapia se TSH tra 4,2 e 10 se paziente asintomatico, ma invio allo specialista se paziente gravida, presenza di autoimmunità o TSH maggiore di  $10 \mu\text{U/ml}$ . Bisogna tenere sempre in considerazione che le donne gravide e i pazienti con autoanticorpi sono molto probabilmente più vulnerabili agli effetti dei PFAS.

#### LIPIDI:

L'esame del profilo lipidico completo oltre che di routine, deve essere fatto anche ai bambini esposti e ripetuto ogni 3 anni se i valori di colesterolo totale  $<190 \text{ mg/dl}$ , più spesso se valori sono più alti. Attenzione: nei pazienti sotto i 20 anni anche valori di colesterolo totale compresi tra 170 e 190 sono valori di allerta e devono essere controllati ogni 6 mesi.

#### GRAVIDANZA:

durante tutta la gravidanza è importantissimo il controllo della P.A. per identificare precocemente una eventuale pre-eclampsia. Se si riscontra l'ipertensione è importante la stadiazione, il continuo monitoraggio, la proteinuria delle 24 h e l'eventuale terapia per l'ipertensione.

#### COLITE ULCEROSA:

Sono opportuni dei questionari da sottoporre ai pazienti esposti dall'età di 15 anni (sarebbe un presidio di sanità pubblica, ma anche i Medici di medicina generale possono organizzarsi con qualche breve domanda riguardo la presenza di sintomi come: alterazioni dell'alvo?, crisi diarroiche?, presenza di sangue e/o muco nelle feci?, modificazioni di altro tipo?) da sottoporre periodicamente (dato che non si tratta di esame invasivo può essere sottoposto annualmente) per identificare precocemente l'eventuale Colite ulcerosa. In tutti i pazienti è comunque utile promuovere stili di vita adeguati in prevenzione primaria e dove è possibile evitare l'azione di altri patogeni ambientali (concimi? Altri biocidi presenti nell'ambiente?).

#### TUMORI TESTICOLI E RENI

Sotto i 15 anni visita annuale solo dei testicoli, sopra i 15 anni oltre alla visita anche eco scrotale dei soggetti esposti. Particolare attenzione nell'osservare lo sviluppo sessuale dei maschi e su eventuali difficoltà nella identità di genere, che potrebbe essere correlata ad una interferenza PFAS –testosterone.

Tra i 20 ed i 30 anni si consiglia un questionario su eventuali disturbi urinari e se sintomi ricerca ematuria ed eco addome. Sopra i 30 anni oltre al questionario es. periodico per ricerca ematuria ed eco addome periodica.

#### Valutazione salute cardiovascolare in soggetti adulti esposti a PFAS:

Pazienti < 40 anni Profilo lipidico + valutazione cardiovascolare + counseling

Pazienti tra 40 e 69 anni Profilo lipidico + carta del rischio + counseling

Pazienti > 70 anni Profilo lipidico + glicemia + pressione arteriosa +counseling

Se valori negativi in tutti i casi, ritestare ogni 3 anni

Se valori positivi ritestare dopo 1 anno se il rischio cardiovascolare a 10 anni > di 3% e < a 20%.

Se rischio a 10 anni >20% controllo semestrale.

Oppure, come scritto riguardo al dosaggio dei lipidi, basarsi su colesterolo totale.

Infine valutare se cardiopatia sintomatica.

Per quanto riguarda l'atteggiamento terapeutico di prevenzione primaria o secondaria delle malattie cardiovascolari si seguono i criteri dello studio ESC 2019 , ma probabilmente, appena sarà possibile la prescrizione autonoma dell'esame ematico dei PFAS, si dovrà tener conto dell'esposizione a PFAS come nuovo fattore di rischio a se stante date le possibili modificazioni indotte, cioè l'aumento del rischio trombotico per la maggiore aggregabilità piastrinica e l'aumento dei fattori correlati alla insulino resistenza indotta ( ipertensione, ipercolesterolemia, diabete nei soggetti predisposti, possibile infiammazione cronica di basso grado, possibile stress ossidativo con danno endoteliale). È quindi possibile che sia da valutare come consiglio l'uso di Aspirina a basse dosi in prevenzione primaria anche nei soggetti con rischio di evento cardiovascolare a 10 anni > del 5%, ma è necessario attendere conferme con studi su ampia scala.

#### Valutazione salute cardiovascolare in bambini ed adolescenti esposti a PFAS:

Soggetti sovrappeso e/o sedentari e/o con LDL > o = 110 mg/dl: consigliata educazione sanitaria e ritestare.

LDL > o = 130: consigliata educazione sanitaria, se inefficace consigliata dieta ipocalorica ed ipolipidica per 6 mesi, se inefficace in pazienti > 8-10 anni valutare se trattamento farmacologico:

Trattare sempre se LDL > 190 anche se isolata,

se LDL > 160 trattare se fattori di rischio associati,

se LDL > 130 trattare solo se Diabete mellito

Attenzione: queste indicazioni basate sull'ipercolesterolemia sono in continua trasformazione.

### Dati utili al medico che lavora sul territorio

Stime: In una cittadina di 10000 abitanti con alti livelli di esposizione a PFOA sono attesi 2100 adulti con ipercolesterolemia, 600 in più della popolazione con bassa esposizione.

### Esperienze passate di comportamento dei medici del territorio

In Ohio dopo esposizione della valle per le fabbriche della Dupont si è adottato il seguente schema di attenzione:

<15 anni controllo: colesterolo, tiroide, testicoli

Tra 15 e 20 anni controllo: colesterolo, tiroide, testicoli, colite ulcerosa

>20 anni controllo: colesterolo, tiroide, colite ulcerosa, testicoli e reni.

Donne incinta: monitoraggio P.A. e proteinuria durante tutta la gravidanza

## Limiti di riferimento (D. Lgs.155/2010)

Inquinante	Limite	Periodo di mediazione	Limite	Superamenti in un anno
<u>PM10</u> ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Valore limite sulle 24 ore per la protezione della salute umana	Media giornaliera	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	massimo 35
	Valore limite annuale per la protezione della salute umana	anno civile	40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
<u>PM2.5</u> ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Valore Limite annuale per la protezione della salute umana	anno civile	25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	Valore limite orario per la protezione della salute umana	Media massima oraria	200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	massimo 18
<u>NO<sub>2</sub></u> ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Valore limite annuale per la protezione della salute umana	anno civile	40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	Soglia d'informazione	Media massima oraria	180 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	Soglia d'allarme	Media massima oraria	240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
<u>O<sub>3</sub></u> ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Valore obiettivo	Media massima giornaliera calcolata su 8 ore	120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	$\leq 25$ volte/anno come media su 3 anni
	Valore obiettivo per la protezione della vegetazione	AOT40, calcolato sulla base dei valori di 1 ora da maggio a luglio	18000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ come media su 5 anni	
<u>CO</u> ( $\text{mg}/\text{m}^3$ )	Valore limite orario per la protezione della salute umana	Media massima giornaliera calcolata su 8 ore	10 $\text{mg}/\text{m}^3$	
<u>SO<sub>2</sub></u> ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Valore limite giornaliero	Media giornaliera	125 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	massimo 3
	Valore limite su 1 ora per la protezione della salute umana	Media massima oraria	350 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	massimo 24
<u>Benzene</u> ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Valore limite su base annua	anno civile	5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
<u>Benzopirene</u> ( $\text{ng}/\text{m}^3$ )	Concentrazione presente nella frazione PM10 del materiale particolato, calcolato come media su un anno civile	anno civile	1 $\text{ng}/\text{m}^3$	
<u>Metalli pesanti</u> ( $\text{ng}/\text{m}^3$ )	Arsenico	anno civile	6 $\text{ng}/\text{m}^3$	
	Cadmio	anno civile	5 $\text{ng}/\text{m}^3$	
	Nichel	anno civile	20 $\text{ng}/\text{m}^3$	
	Piombo	anno civile	0,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	

*Chiedo scusa a tutti gli Autori che trovassero in questa dispensa delle loro frasi non virgolettate con l'esatta citazione, ma come ho detto nella prefazione questo lavoro è il sunto di appunti presi in vari anni ed in vari contesti, per uso personale. Ora ho deciso di condividere queste conoscenze per contribuire a diffondere una cultura ambientalista.*

***I consigli presenti in questa dispensa non devono sostituire la diagnosi e cura del Medico***

**Letture consigliate per chi vuole approfondire**

**AMBIENTE E SALUTE**

*a cura di Maria grazia Petronio.....Edizioni Aboca*

**INQUINAMENTO AMBIENTALE E SALUTE**

*a cura di Agostino Di Ciaula, Vitalia Murgia e Maria Grazia Petronio.....Edizioni Aboca*

**INQUINAMENTO E MALATTIE**

*A CURA DI Maurizio Proietti.....Edizioni Minerva Medica*

**I MODULATORI FISIOLGICI**

*A cura di Umberto Cornelli.....Edizioni MediService*

**Associazioni che si occupano di Medicina Ambientale**

**ASSIMAS Associazione Italiana Medicina Ambiente Salute**

**ISDE Medici per l'Ambiente**

## APPUNTI DI MEDICINA AMBIENTALE

**Le Basi per il Medico Pratico, il Farmacista, il Biologo, lo Studente universitario, il Naturopata, la Persona curiosa ed il Malato di Sensibilità Chimica Multipla**

*La pretesa di questi appunti è quella di supportare il Medico pratico in un percorso di conoscenza approfondita dei meccanismi che si attivano nelle malattie croniche collegate all'ambiente. Questo percorso, per non risultare troppo pesante o carico di formule chimiche, privilegia i concetti, selezionando le informazioni più importanti e concatenate fra loro, in modo di non dover ricorrere continuamente a ricerche per comprendere la catena causale degli eventi patologici. Questa dispensa è dunque stata pensata per il Medico Pratico che non ha né il tempo né la volontà di diventare uno specialista della Medicina ambientale.*

**Andrea Vannozi**

*Nato a Vicenza il 14 Giugno 1953, si laurea in Medicina e Chirurgia nel 1978 presso l'Università di Padova con 110 e lode e si specializza in Igiene e Medicina preventiva presso l'Università di Trieste nel 1981. Dal 1979 è Medico di Medicina generale, convenzionato con Sistema Sanitario Nazionale, fino al 2020. Successivamente si dedica alla libera professione nell'ambito della Medicina ambientale ed in particolare nella diagnosi e cura dei pazienti con Sensibilità Chimica Multipla. Ha conseguito nel 1987 l'Attestato di frequenza al corso di Mesoterapia presso il Centro internazionale studi della Nuova Medicina di Bologna e nel 1997 l'Attestato di frequenza, con esame finale, al corso triennale di Omeopatia del CISDO di Milano. Ha frequentato a Milano nel 2017 il Master sulla Medicina Ambientale Clinica dell'associazione ASSIMAS (Associazione Italiana Medicina Ambiente Salute).*

*Risiede a Vicenza ed è padre di quattro figli e nonno. Prima di appendere definitivamente il fonendoscopio al chiodo ha sentito il bisogno di condividere, almeno in parte, le conoscenze acquisite durante il tempo dedicato allo studio delle malattie ambientali, convinto che saranno la sfida con la quale si dovrà cimentare il Medico pratico del futuro.*