



Progetto SEpiAs-CCM

*Sorveglianza epidemiologica
in aree interessate da
inquinamento ambientale da
arsenico di origine naturale o
antropica*

Lettera al medico curante dei donatori aderenti allo studio SEpiAs

Caro collega,

con la presente desideriamo informarti che, nell'ambito dello studio SEpiAs, sono stati selezionati come potenziali donatori alcuni dei pazienti da te assistiti.

Lo studio SEpiAs ha come obiettivo la valutazione dell'esposizione ad arsenico (As) nella zona di residenza, stimata attraverso dati di inquinamento ambientale e valutata mediante indicatori di dose assorbita, assieme a marcatori biologici di effetto precoce sulla salute. A questo scopo viene effettuato il prelievo di circa 20 ml di sangue, viene richiesto un campione di almeno 20 ml di urina e viene effettuata una visita cardiologica.

Sul sangue vengono effettuate le analisi di base: Emocromo con formula, PCR, VES, Fibrinogeno, Glicemia, Creatininemia, Colesterolo (Totale, LDL, HDL).

Nel sangue vengono misurati come biomarcatori:

Test del Micronuclei: è un test di genotossicità, che consente di osservare errori nella divisione cellulare causati da sostanze dannose. Consiste nel prelevare cellule da una piccola quantità di sangue venoso durante la divisione cellulare (mitosi) e osservarne un discreto numero (almeno un centinaio) al microscopio. In caso di errori (provocati dal mutageno), sono visibili, oltre al nucleo, frammenti di DNA sparsi per il citoplasma, che non sono stati incorporati nel nucleo principale durante le ultime fasi della divisione cellulare (chiamati micronuclei). I micronuclei appaiono come dei piccoli nuclei accessori, identici a quelli normali ma di dimensioni notevolmente ridotte, e possono essere contati in linfociti di sangue periferico coltivati in vitro.

Biomarcatori Molecolari: valutano la presenza di specifici polimorfismi funzionali dei geni coinvolti nei meccanismi di detossificazione metabolica e di riparazione del DNA al fine di definire le diverse capacità metaboliche e riparative connesse alla costituzione genetica (presenza di polimorfismi genetici) che possono creare le basi per differenze interindividuali nell'induzione degli effetti biologici e clinici derivanti da fattori di esposizione ambientale. L'analisi richiede soltanto il prelievo di una piccola quantità di sangue venoso e una tecnologia nota come PCR.

Marcatori epigenetici: valutano le alterazioni della metilazione del DNA che possono influenzare la trascrizione di geni critici, contribuendo allo sviluppo di patologie. L'analisi richiede soltanto il prelievo di una piccola quantità di sangue venoso e una tecnologia nota come sequenziamento diretto del DNA per l'identificazione dei componenti chimici.

Marcatori di danno al DNA: numerosi agenti chimici e fisici causano danni al DNA; tra questi, le rotture indotte nella molecola che porta l'informazione genetica sono particolarmente pericolose per il corretto funzionamento delle cellule, ed è quindi importante determinare la potenzialità di causarli da parte di inquinanti ambientali. Poiché la modificazione di una proteina legata al DNA, l'istone H2AX, è una delle risposte più precoci che la cellula mette in atto per contrastare le rotture al DNA, determinare i livelli di questa proteina modificata è un mezzo per stimare la presenza di rotture nel DNA. L'analisi della proteina H2AX modificata può essere effettuata analizzando al microscopio linfociti del sangue periferico opportunamente trattati.

Marcatori di apoptosi: è una forma di morte cellulare condotta in modo ordinato e regolato, e generalmente porta ad un vantaggio durante il ciclo vitale dell'organismo (ad esempio, durante lo sviluppo l'embrione umano presenta abbozzi di mani e piedi "palmati": affinché le dita si separino, è necessario che le cellule costituenti le membrane interdigitali muoiano in modo programmato). Al contrario della necrosi che è una forma di morte cellulare incontrollata, l'apoptosi è definita morte altruista o morte pulita. Un'eccessiva attività apoptotica può causare disordini da perdita di cellule, un'apoptosi carente può implicare una crescita cellulare incontrollata. Le cellule apoptotiche hanno un aspetto tipico e caratteristiche particolari che le rendono riconoscibili al microscopio.

Marcatori di stress cellulare: in condizioni di stress cellulare, come esposizione a sostanze mutagene, danno al DNA, cambiamenti dell'ambiente intracellulare, una delle prime risposte della cellula è l'attivazione della proteina PARP, che è un sensore di situazioni di potenziale pericolo per la cellula. La proteina reagisce al pericolo con la sintesi di un polimero, che promuove i meccanismi di difesa della cellula; il polimero può essere visualizzato all'interno della cellula.

Infine nel sangue è prevista la misura della concentrazione dell'arsenico totale, non corretto e corretto per la concentrazione di creatinina dosata nello stesso individuo, e la concentrazione del mercurio.

Nelle urine è prevista la speciazione dell'arsenico come **marcatore di esposizione**, nelle forme inorganiche trivalente (As+3) e pentavalente (As+5) e in quelle organiche, come acido monometilarsonico (MMA), acido dimetilarsinico (DMA), arsenobetaina e arsenocolina.

Lo studio prevede, oltre al prelievo, un'intervista tramite questionario, con domande che riguardano la storia medica, l'ambiente in cui vive, le abitudini di vita, inclusa la dieta alimentare, la sua storia lavorativa. Una sezione del questionario riguarda inoltre la percezione dei pericoli e dei rischi nella zona in cui vive. L'intervista con questionario dura circa 30 minuti.

Infine si sottopongono i donatori ad una visita cardiologica che prevede test diagnostici non invasivi: ECG, ecografia dei vasi cerebro-afferenti, ecocardiogramma basale. Tutti questi esami vengono eseguiti nella stessa seduta.

I prelievi e la visita si svolgono su donatori volontari, selezionati per sorteggio dall'elenco degli assistiti e scelti per sesso ed età, che abitano nelle aree selezionate dai responsabili della ricerca.

I dati sono utilizzati per la ricerca scientifica e per fini statistici ed epidemiologici. I campioni, i questionari e i risultati degli esami cardiologici vengono identificati solo da un numero di codice e non riportano il nome del donatore. Il risultato delle analisi, se presentato in relazioni e pubblicazioni scientifiche, non viene accompagnato da elementi che permettano di ricondurre all'identità del donatore.

Al donatore viene chiesto, su un apposito modulo di consenso informato, se vuole conoscere i risultati dal responsabile locale della ricerca.

Il presente studio non ha interessi commerciali e i responsabili hanno dichiarato di essere esenti da conflitti di interessi a riguardo del tema in oggetto.

Lo studio SEpiAs è coordinato dal Dr. Fabrizio Bianchi, Istituto di Fisiologia Clinica del CNR.
(e-mail: fabrizio.bianchi@ifc.cnr.it; tel. 050 3152100)

Le Unità Operative territoriali di SEpiAs sono: la AUSL di Viterbo (UO1); la U.F. Igiene e Sanità Pubblica, Zona Amiata-Val d'Orcia, USL 7, Abbadia San Salvatore (SI) (UO2); l'Unità di Epidemiologia e Statistica, Dip. di Prevenzione, ASL, Taranto (UO3); l'UO Epidemiologia, Distretto di Gela, ASP di Caltanissetta, Gela (UO4).

Il referente per la UO Amiata è il Dr. Riccardo Frazzetta, Responsabile U.F. Igiene e Sanità Pubblica, Zona Amiata Val d'Orcia, USL 7 Siena, Abbadia San Salvatore; e-mail r.frazzetta@usl7.toscana.it. - tel. 331 6465061.

Altre informazioni sono riportate nel protocollo di studio, che si può richiedere al coordinatore.