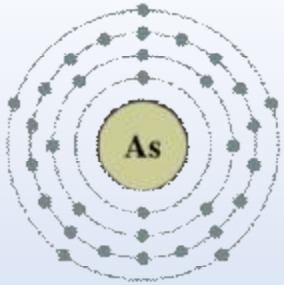
Monitoraggio biologico dell'esposizione ad arsenico

Gruppo di Lavoro 4 "Biomonitoraggio Umano"

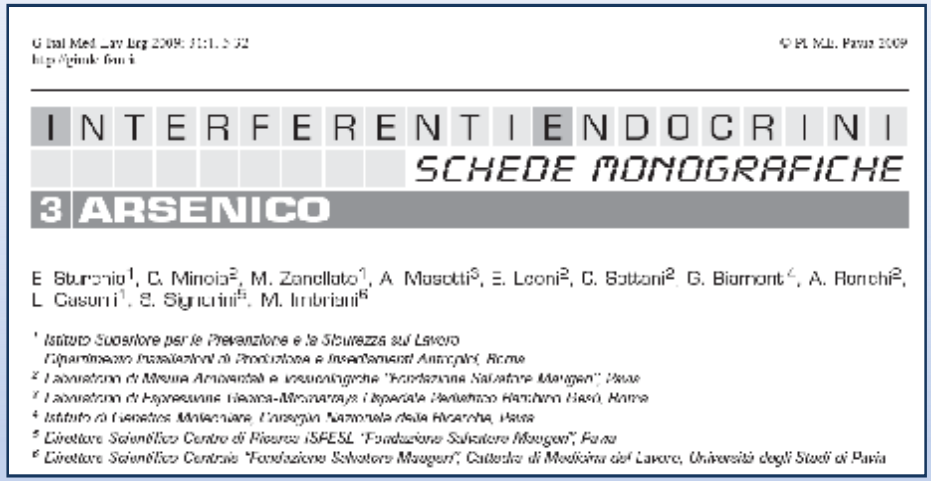
Emanuela Leoni- Assegnista di Ricerca IGM-CNR, Pavia

ARSENICO



G:\schede\arsenico.pdf

Simbolo	As
Numero atomico	33
Gruppo Periodo	15, (Va) 4
Serie chimica	metalloidi (non metalli)
Aspetto	cristalli fragili, grigi con aspetto metallico, inodore
Massa atomica	74,9
Stati di ossidazione	-3, 0, +3, +5
Punto di fusione Punto di ebollizione	814 C 615 C
Solubilità in acqua	insolubile
Classe di cancerogenicità Gruppo mutageno per le cellule germinali (DFG 2004)	1 3A
Frasi R Frasi S	R 23/25 S ½ - 20/21-28-45



INTERFERENTI ENDOCRINI
SCHEDE MONOGRAFICHE
3 ARSENICO

E. Sturniolo[1], C. Minoia[2], M. Zanellato[1], A. Masotti[3], E. Leoni[2], C. Sottoni[2], G. Biamonti[4], A. Ronchi[2], L. Casoni[1], S. Signorini[5], M. Imbriani[6]

[1] Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza sul Lavoro
Dipartimento Insediamenti di Produzione e Insediamenti Antropici, Roma
[2] Laboratorio di Misure Ambientali e Igienistiche "Fondazione Salvatore Maugeri", Pavia
[3] Laboratorio di Ispezione Igiene-Microbiologia Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
[4] Istituto di Genetica Molecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pavia
[5] Direttore Scientifico Centro di Ricerca ISPESL "Fondazione Salvatore Maugeri", Pavia
[6] Direttore Scientifico Centrale "Fondazione Salvatore Maugeri", Cattedra di Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Pavia

DIFFUSIONE UBIQUITARIA

(WHO 2001)

Acque oceaniche:
0,3 µg/L

Acque continentali:
0,05-1,00 µg/L

Aree rurali:
0,007-28 ng/m^3

Aree urbane:
3-200 ng/m^3

1-40 mg/Kg

SORGENTI ESPOSITIVE

- **dieta**

  Intake Giornaliero Tollerabile Provvisorio **(PTDI)** per As inorganico:

  2,1 µg/Kg/*die* (Joint Fao/WHO, 1989).

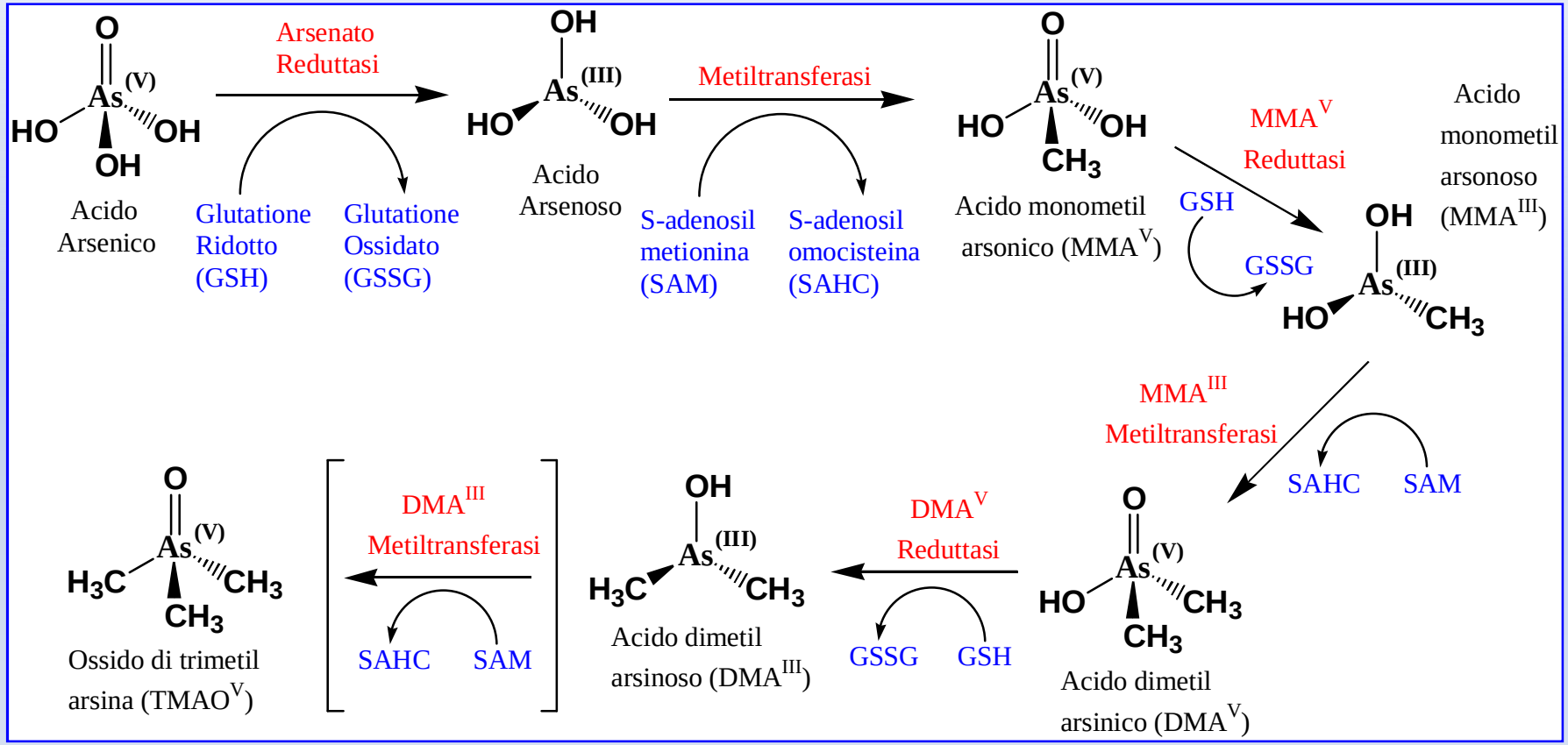
- **consumo di acqua potabile**

- insediamenti antropici nei pressi di fonderie

- suolo contaminato

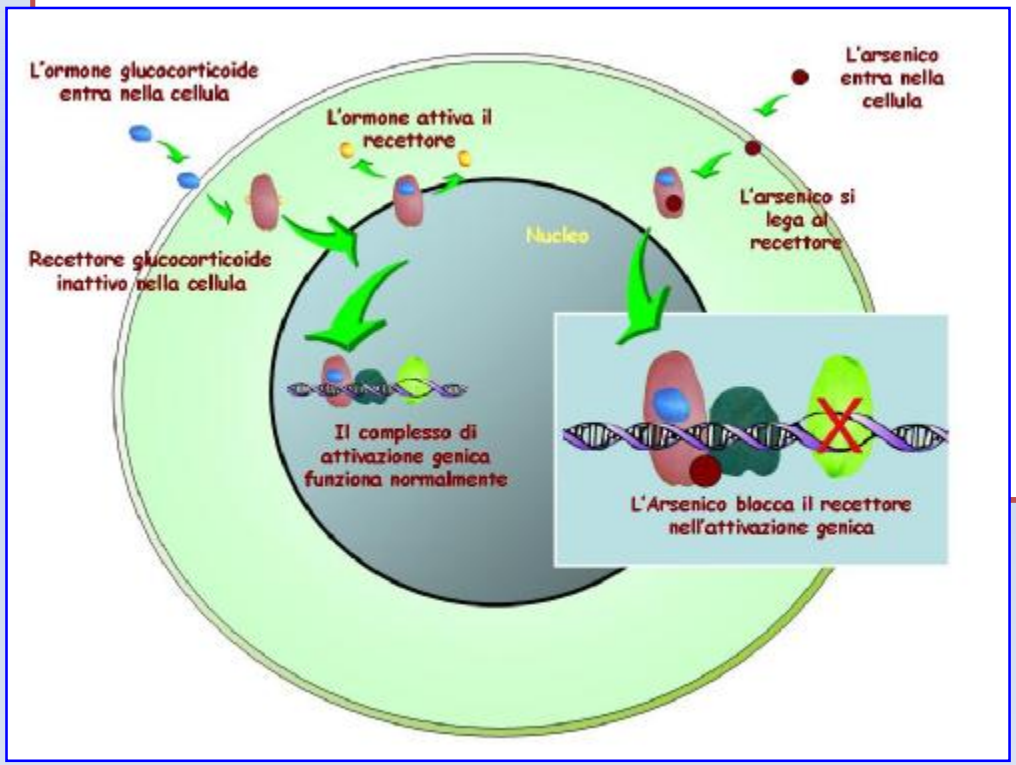
- antiparassitari contenenti As

METABOLISMO dell'As



MECCANISMO d'AZIONE dell'As

Altera la regolazione genica tramite interazione con i recettori degli ormoni steroidei [glucocorticoidi (GR), mineralcorticoidi (MR), progesterone (PR) e androgeni (AR)] (Bodwell, 2006; Bodwell, 2004; Kaltreider, 2001)



Inibizione selettiva della trascrizione del DNA che in condizioni normali dovrebbe essere stimolata dal complesso glucocorticoide-GR

IL MECCANISMO DI REGOLAZIONE GENICA E' ANCORA SCONOSCIUTO

Meccanismo di interferenza dell'As con il complesso glucocorticoide-GR (Modificato da Kaltreider, 2001).

- effetti simili sul **TR** *(Thyroid Hormone Receptor)* e sul **RAR** *(Retinoic Acid Receptor)* (Davey, 2008)

NUOVI TARGET:
proteine? pathway?

- Studi epidemiologici condotti su bambini esposti hanno evidenziato **effetti sulle funzioni cognitive** (Wasserman, 2004)
- Capacità dell'As di agire sul DNA inducendo cambiamenti epigenetici per cui non si escludono **effetti a lungo termine** (Liu, 2006; Shen, 2006; Waalkes, 2004)

Tecniche analitiche

1. Monoelementari

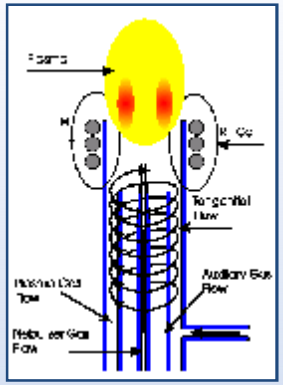
spettrofotometria di assorbimento atomico con sistema di iniezione di flusso accoppiato a tecnica degli idruri (FI-HG-AAS)

LOD $_{\text{FI-HG-AAS}}$: µg/L

2. Multielementari

spettrometria di massa con sorgente a plasma induttivo (ICP-MS)

LOD $_{\text{ICP-MS}}$: ng/L



DRC-ICP-MS

Modello ELAN DRC II (Perkin Elmer Sciex Instrument)

VANTAGGI

- elevata sensibilità
- adatta a studi di biomonitoraggio (analisi simultanea di più elementi)
- determinazione degli isotopi dei singoli elementi in base al rapporto m/z
- preparativa del campione meno laboriosa *vs* altre metodiche
- linearità in ampio *range* dinamico

La sensibilità, il livello di doppie cariche, degli ossidi e il disturbo di fondo sono state verificate mediante:

Daily Performance Report

(ELAN 6100 DRC SETUP STAB MASSCAL SOLUTION)

§ ^{24}Mg>6000 *cps*/1 ppb

§ ^{115}In>30000 *cps*/1 ppb

§ ^{238}U>20000 *cps*/1 ppb

§ Ba^{2+}/Ba<3%

§ CeO^{+}/Ce<3%

§ 220<2 cps

§ RDS<2%

Il PROBLEMA delle INTERFERENZE

- Radiofrequenza
- Flusso Gas

Interferenze di tipo **spettrale poliatomiche** (es ^{58}Ni su ^{58}Fe)

- DRC

Interferenze di tipo **spettrale isobariche** (es $^{40}Ar^{16}O$ su ^{56}Fe)

Gas	Gas A	Gas B
NH_3	0,5	0
CH_4	0	0,65

Parametri strumentali della DRC espressi in mL/min

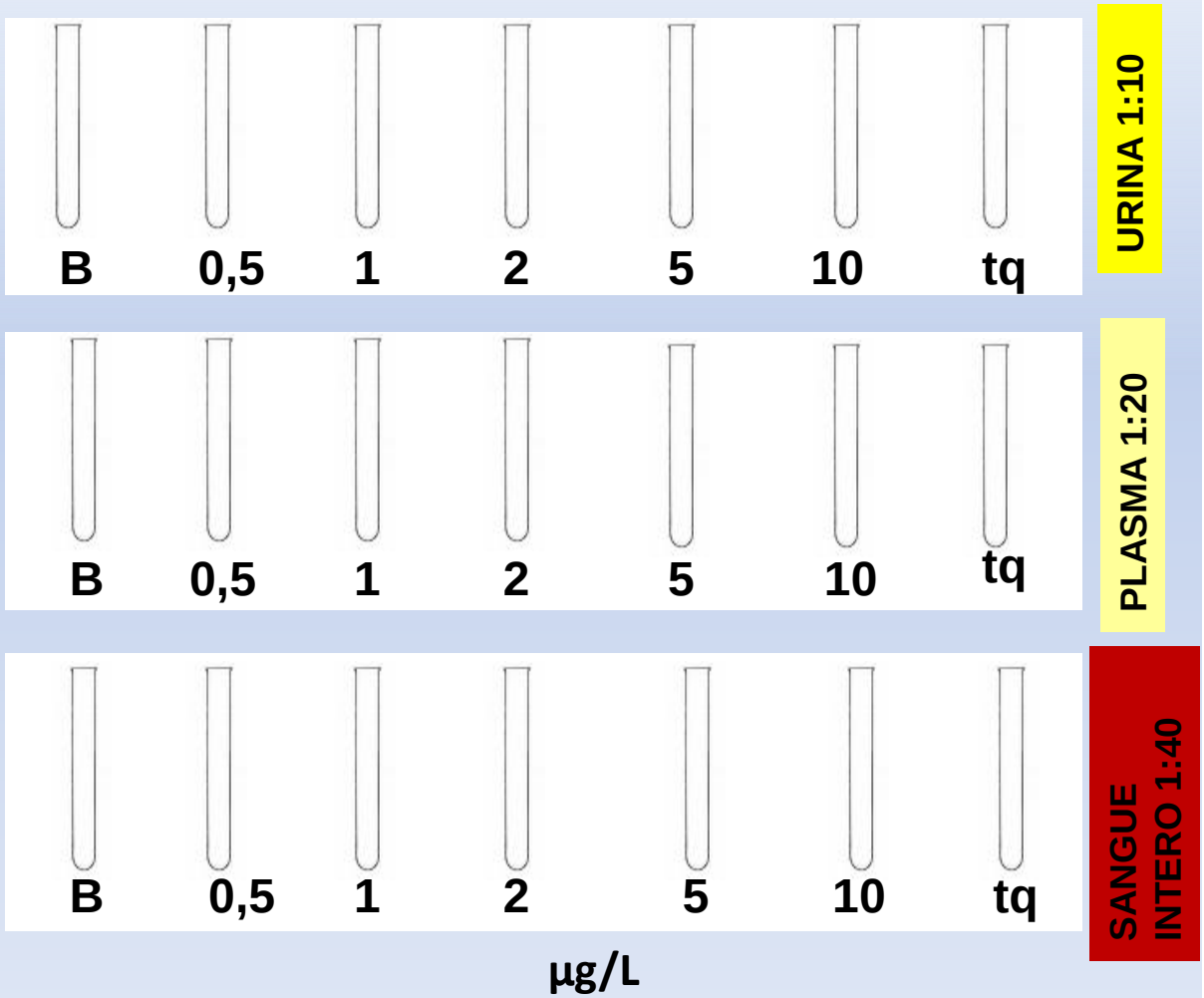
- Pretrattamento campione
- Curva di taratura mediante *standard addition*

Interferenze di tipo **non spettrale** (effetti interferenti da matrice)

CURVE di TARATURA

Metodo delle aggiunte standard alla matrice

1. Soluzione standard multielemento ICP/MS CALIB STDS (10 mg/L)
2. Soluzione standard multielemento STD III (10 mg/L)
3. Mercury ICP/MS standard (10 mg/L)
4. Certipur (10mg/L)



TRATTAMENTO dei CAMPIONI

SANGUE INTERO (n=233) e PLASMA (n=230)

1. 1 mL plasma/sangue intero
2. 3,5 mL HNO_3 65% Suprapur
3. 0,5 mL H_2O_2 30% Suprapur
4. mineralizzazione mediante forno a microonde MARSXPRESS (*CEM Corporation*)
5. raffreddamento
6. diluizione 1:20 (v/v) (plasma) 1:40 (v/v) (sangue intero) con 1% HNO_3

URINA (n=149)

1. omogenizzare
2. 1 mL urina
3. diluizione 1:10 con 1% HNO_3 (v/v)

ADEGUATEZZA del metodo verificata mediante **Standard Reference Material (SRM):**

- Seronorm Trace Element Whole Blood L-1
- Seronorm Trace Element Serum L-1
- Seronorm Trace Element Urine

VALIDAZIONE del METODO

- ü **Buona linearità delle curve di taratura nell'intervallo di concentrazioni**

  (coefficienti di correlazione: 0,9998-0,9999)

- ü LOD=3*SD bianco matrice (20 repliche)

- ü **Recupero=94-102%**

- ü Accuratezza: stimata usando 3 tipi SRM

  Precisione: 1,5-9%

  Esattezza: 94-102%

GRAZIE

As urinario

Autore, anno	Area geografica	Conc min (µg/L)	Conc max (µg/L)	Conc Mediana (µg/L)	n	Età soggetti	Anno campionamento
Apostoli, 1999	Italia	5	210	10,6	39		1998
Caldwell, 2009	USA	7,2	9,6	8,3 media geometrica	2'557	6-20	2003-04
Meza, 2004	Cile	4	161	32,7	67	10-85	1999-00
Caceres, 2004	Messico	46	90,6	64,5	43	19-75	2001
Hata, 2007	Giappone	73,9	225,9	141	210	43,7	2004-06
Rahman 2001	India	10	3'147	180	86'000		1989
Chowdhury, 2000	Bangladesh	24	3'086	280	18'000	11-70	1989
Pi, 2002	Cina Mongolia			71	10	42	1984

1. Presenza nell' ambiente
2. Dati chimici e fisici
3. Sorgenti espositive per la popolazione generale
4. Fonti ambientali
5. Metabolismo e specie chimiche
6. Contributo della dieta
7. Tossicità
8. Suscettibilità individuale
9. Cancerogenicità
10. Utilizzo di composti di arsenico nella terapia antitumorale
11. Meccanismo di azione dell'As come interferente endocrino
12. Studi di espressione genica
13. MicroRNA
14. Metodi di analisi
14.1 Determinazione di arsenico totale e speciazione di forme organiche
14.2 Influenza della conservazione e della fase preparativa del campione
15. Arsenico e biomarcatori
16. Concentrazioni di riferimento dell'*intake* alimentare
17. Valutazione dei valori di arsenico in liquidi biologici
18. Valori di As in soggetti esposti
19. Conclusioni
20. Bibliografia