



A.D. MDLXII

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SASSARI  
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

---

**DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOLOGIA, MORFOLOGIA,  
FARMACOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO  
XXI CICLO**

---

## **EFFETTI DEL CADMIO SULL'UOMO**

Coordinatore:  
Chiar.mo Prof. Eusebio Tolu

Tutor:  
Chiar.mo Prof. Andrea Montella

Dottorando:  
Dott.ssa Paola Tolu

Anno Accademico 2007-2008

Autore: Paola Tolu  
Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo  
Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso  
Università degli Studi di Sassari

# INDICE

I	<b>INTRODUZIONE</b>	1
I.1	I metalli pesanti	2
I.2	Il Cadmio (Cd)	4
I.3	Gli isotopi del Cd	5
I.4	Il Cd in natura	6
I.5	La sfalerite	7
I.6	Produzione mondiale di Cd	8
I.7	Utilizzo del Cd	9
I.8	Il Cd in Sardegna	12
I.9	Valori del Cd	14
I.10	Accumulo di Cd	15
I.11	Gli oligoelementi	16
I.12	Bioaccumulo di Cd	17
I.13	Vie di assorbimento	18
I.14	Intossicazione da Cd	22
I.15	Carcinogenesi nell'uomo	31
I.16	Carcinogenesi nell'animale	32
I.17	Tossicocinetica	36

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

I.18	Il Cd e l'ambiente.	38
I.18.1	Emissioni atmosferiche	39
I.18.2	Contaminazione dell'acqua	40
I.18.3	Contaminazione del suolo	41
I.18.4	Contaminazione degli alimenti	42
I.18.5	Effetti di altri nutrienti sul Cd	45
II	<b>OBIETTIVI</b>	48
III	<b>MATERIALI E METODI</b>	49
III.1	Soggetti	49
III.2	Trattamento ed analisi dei campioni	50
III.3	Analisi statistica	53
IV	<b>RISULTATI</b>	55
V	<b>DISCUSSIONE E CONCLUSIONI</b>	65
VI	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	70

## **I. INTRODUZIONE**

La crosta terrestre è costituita da diversi elementi chimici di cui circa il 75% sono metalli. (43, 44, 45)

I metalli (dal greco "metallon", che significa miniera e quindi minerale) sono elementi chimici solidi a temperatura ambiente, ad eccezione del mercurio; sono una eterogenea categoria di elementi duttili e malleabili, buoni conduttori di elettricità e di calore, fondono alle alte temperature e possono costituire delle leghe. Dei 103 elementi che compongono la tavola periodica ben 79 possono essere fatti rientrare nel gruppo dei metalli.

Nella crosta terrestre si ritrovano in forma cristallina soprattutto 25 metalli (dal berillio allo zirconio) che rappresentano anche i più interessanti dal punto di vista tossicologico. I metalli sono quindi naturalmente presenti nell'aria, nell'acqua, nel suolo e di conseguenza anche negli alimenti. Tuttavia le attività umane hanno portato ad una progressiva dispersione nell'ambiente dei metalli stessi. L'uomo ha cominciato ad estrarre e lavorare i metalli almeno 4000-5000 anni or sono, ma con l'avvento dell'era industriale le attività estrattive, metallurgiche e di lavorazione dei metalli hanno determinato un aumento della dispersione nell'ambiente e costituiscono un fattore di rischio anche per la popolazione generale, oltre che per i lavoratori esposti.

I metalli possono essere classificati in essenziali e non-essenziali o tossici. Si definiscono essenziali i metalli indispensabili per gli organismi viventi ma in concentrazioni marginali (microminerali o oligoelementi) quali: ferro (Fe), rame (Cu), zinco (Zn) il cui fabbisogno è dell'ordine dei milligrammi ed il vanadio (V), il cromo (Cr), il manganese (Mn), il cobalto (Co),

l'arsenico (As), il selenio (Se) e il molibdeno (Mo) il cui fabbisogno è circa 1000 volte inferiore, vale a dire nell'ordine dei microgrammi.

Si definiscono non essenziali o tossici quei metalli di cui non si conosce nessuna funzione biologica essenziale quali piombo (Pb), mercurio (Hg), cadmio (Cd), alluminio (Al), berillio (Be) e il nichel (Ni).

Sia i metalli essenziali che quelli non essenziali, se ingeriti in quantità sufficientemente elevata e per un certo periodo di tempo, sono potenzialmente tossici e possono danneggiare tessuti ed organi.

Sono quindi importanti ai fini della potenzialità del danno la dose del metallo, la durata dell'esposizione, la via di assorbimento e la vita media del metallo. (43, 44, 45)

I metalli si possono classificare in “leggeri e pesanti” in base al loro peso molecolare.

## **I.1 I metalli pesanti**

Con la definizione metalli “pesanti” vengono identificati quegli elementi chimici che presentano le seguenti caratteristiche comuni:

- hanno una densità superiore a 5,0 g/cm<sup>3</sup> ;
- si comportano come cationi, ossia come ioni dotati di carica positiva quando sono sottoposti ad un campo elettromagnetico;
- presentano una bassa solubilità dei loro idrati;
- hanno tendenza a dare vita a legami complessi;
- hanno una grande affinità con i solfuri, nei quali tendono a concentrarsi;

- hanno diversi stati di ossidazione a seconda delle condizioni di pH ed Eh.

I metalli pesanti, ad eccezione del Fe e dell'Al appartengono ai cosiddetti "elementi in traccia", presenti nei più comuni suoli e rocce della crosta terrestre in concentrazioni inferiori allo 0,1%. Le loro concentrazioni nei suoli, nei sedimenti e nelle rocce, sono solitamente di parti per milione o per miliardo.

Nella letteratura scientifica vengono normalmente considerati metalli pesanti i seguenti elementi: Al, Fe, Ag, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Mn, Hg, Mo, Ni, Pb, Cu, Sn, titanio (Ti), tallio (Tl), V, Zn ed alcuni metalloidi con proprietà simili a quelle dei metalli pesanti, quali l'As, il bismuto (Bi) ed il Se.

I metalli pesanti sono molto resistenti alla degradazione naturale e mantengono inalterata la tossicità per lungo tempo; per questo motivo la loro concentrazione nell'ambiente dovrebbe essere tenuta sotto controllo ed a livelli molto bassi. (41, 43, 44)

Quando si parla di inquinamento da metalli pesanti, normalmente ci si riferisce a quattro di questi elementi, che sono i maggiori responsabili dei danni ambientali, ossia: il Hg, il Cd, il Pb e l'Al. (15)

Le proprietà tossiche sono elevata sia per l'uomo che per tutte le specie viventi in quanto si legano alle strutture cellulari in cui si depositano, ostacolando lo svolgimento di determinate funzioni vitali, per cui gli organismi spesso non sono in grado di eliminarli. (62, 63)

Il Cd in particolare è tra i più pericolosi per la salute e per l'ambiente essendo altamente teratogeno ed avendo un potenziale cancerogeno comprovato. (91)

Questa tesi verterà sullo studio del Cd e dei suoi numerosi effetti sull'organismo.

## **I.2 Il Cadmio**

Il Cadmio (Cd) è un elemento metallico di colore bianco-argenteo, duttile e malleabile, di simbolo Cd e numero atomico 48; è uno degli elementi di transizione ed appartiene al gruppo IIB (o 12) della tavola periodica.

Il Cd fu scoperto in Germania nel 1817 da F. Stromeyer in un campione del minerale calamina; la parola cadmio deriva dal latino “cadmia” e dal greco “kadmeia” ovvero calamina o cadmia.

A temperatura ambiente viene attaccato facilmente dagli acidi, anche deboli, si discioglie nelle soluzioni concentrate dei sali di ammonio con formazione di un complesso, reagisce con ammoniaca e con biossido di zolfo, e all'aria umida perde la propria lucentezza ricoprendosi lentamente di uno strato superficiale di ossido che lo protegge da un attacco in profondità. A temperature elevate brucia all'aria formando l'ossido, reagisce con vapor d'acqua, si combina direttamente con lo zolfo, con gli alogeni e con il fosforo e l'arsenico.

Fonde a 321 °C, bolle a 765 °C, ha densità relativa 8,64 e peso atomico 112,412. A temperatura ambiente si conserva inalterato per lungo tempo, ma se riscaldato in presenza d'aria si incendia facilmente e si trasforma nel corrispondente ossido, CdO, generando una fiamma brillante.

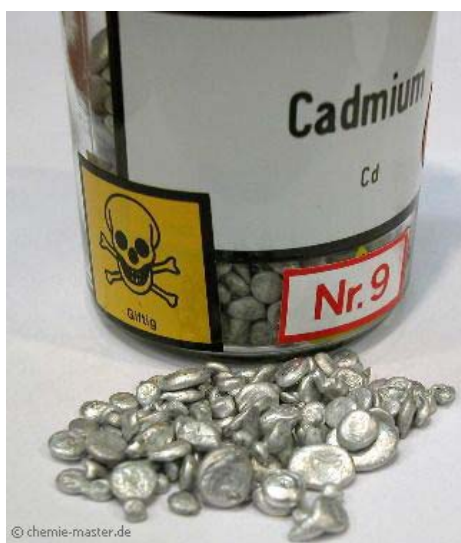


Figura 1. Cadmio

### I.3 Gli isotopi del Cd

Il Cd che si trova in natura consiste di 6 isotopi stabili e 27 radioisotopi di cui i più stabili sono  $^{113}\text{Cd}$  con emivita di  $7,7 \cdot 10^{15}$  anni,  $^{109}\text{Cd}$  con emivita di 462,6 giorni e  $^{115}\text{Cd}$  con emivita di 53,46 ore. Tutti gli altri isotopi hanno tempi di dimezzamento inferiori a 2,5 ore e la maggior parte di loro inferiore a 5 minuti. Questo elemento ha inoltre otto metastati di cui i più stabili sono  $^{113}\text{Cd}^m$  (emivita: 14,1 anni),  $^{115}\text{Cd}^m$  (emivita: 44,6 giorni) e  $^{117}\text{Cd}^m$  (emivita: 3,36 ore).

Gli isotopi del Cd hanno un peso atomico che va da 96,935 amu ( $^{97}\text{Cd}$ ) a 137,934 ( $^{138}\text{Cd}$ ). La principale modalità di decadimento degli isotopi più leggeri di  $^{112}\text{Cd}$  è la cattura elettronica con conseguente trasformazione in argento, per gli altri è il decadimento beta con trasformazione in indio (In).



#### I.4 Il Cd in natura

Il Cd è un elemento piuttosto raro in natura (circa 0,2 ppm nella crosta terrestre) dove non esiste allo stato nativo; esistono alcuni rari minerali del Cd quali il solfuro (greenockite) (fig.2) e il carbonato basico (otavite) poco sfruttabili a livello industriale.

Viene prodotto in discreta quantità come sottoprodotto della fusione dello Zn dal relativo minerale, la sfalerite (ZnS) o blenda (fig.3), nel quale il Cd è un'impurità significativa, costituendo fino al 3%.



Figura 2 Greenockite

## **I.5 La sfalerite**

La sfalerite (fig.3) appartiene alla numerosa classe dei solfuri. Chimicamente è costituita da Zn e zolfo (S) e, allo stato puro, contiene il 67% di metallo. Nel minerale sono però presenti vari altri elementi, tra cui il Fe, il Mn, il Cd e, talvolta, anche l' In ed il gallio (Ga); può essere inoltre argentifero e aurifero.



Figura 3 Sfalerite o blenda

La sfalerite è un minerale molto comune e diffuso che si può formare in diversi ambienti geologici.

Si rinviene, per esempio, nei depositi idrotermali di alta o bassa temperatura e nelle rocce di natura calcarea o dolomitica interessate da fluidi idrotermali. Sono numerosissime le località italiane ed estere nelle quali è noto questo minerale. In Lombardia la sfalerite è diffusa in tutto il distretto metallifero del Bergamasco; in Trentino-Alto Adige è stata intensamente estratta soprattutto nella miniera di Monteneve-Schneeberghutte, in Val Passiria

(Bolzano), ed anche in quella di Cinquevalli, presso Roncegno (Trento). Nel Veneto è presente nei dintorni di Vicenza e nella ex-miniera di Salafossa, vicino a Belluno.

A Stazzema (Lucca) sono stati trovati splendidi cristalli e tuttora si rinvencono nei geodi del marmo di Carrara.

I giacimenti più significativi sono quelli della Sardegna, in particolare la miniera di Montevecchio nel Medio Campidano e la miniera di Monteponi nell'Iglesiente.

I giacimenti europei più importanti si trovano a Trepta (Serbia), Rodna (Romania) e Santander (Spagna). Di eccezionale bellezza sono anche i gruppi cristallizzati originari nella valle del Mississippi (Stati Uniti).

La sfalerite è il più importante minerale industriale utilizzato per l'estrazione dello Zn e di altri metalli poco comuni, come il Cd, il Ga e l'In.

## **I.6 Produzione mondiale di Cd**

Ogni anno circa 25.000 tonnellate di Cd vengono rilasciate naturalmente nell'ambiente, di cui la metà circa si ritrova nei fiumi in seguito all'erosione delle rocce ed una piccola parte nell'aria come conseguenza degli incendi boschivi e dell'attività vulcanica. Il resto del Cd, tra 4000 e 13000 tonnellate, viene liberato nell'ambiente come diretta conseguenza sia dell'estrazione del metallo, prevalentemente come sottoprodotto della raffinazione di minerali di Zn, sia dell'uso dei combustibili fossili.

L'importanza relativa delle diverse fonti di Cd è riportata nella seguente tabella:

Concimi fosfati	41,3%
Uso di combustibili fossili	22,0%
Produzione di ferro e acciaio	16,7%
Fonti naturali	8,0%
Metalli non ferrosi	6,3%
Produzione di cemento	2,5%
Prodotti del Cadmio	2,5%
Incenerimento	1,0%

Tab.1 Valori del 1998

## **I.7 Utilizzo del Cd**

Circa il 75% del Cd viene utilizzato per la produzione delle batterie, soprattutto batterie al Ni-Cd e la maggior parte del 25% restante viene utilizzato nella cadmiatura come protezione superficiale di materiali metallici quali acciaio, Fe e Cu.

Una piccola parte viene utilizzata per la produzione di leghe speciali, come quelle a basso punto di fusione a base di Cd, Bi, Sn, Pb e In, impiegate per dispositivi di sicurezza antincendio, quelle a base di Cd, Ni, Cu e Ag, utilizzate per cuscinetti a sfera, quelle a base di Cd e Zn impiegate nella saldatura dell'Al.

Il Cd metallico, grazie all'elevato potere di assorbimento dei neutroni, viene utilizzato nelle barre di controllo per i reattori nucleari nonché come barriera per controllare la fissione nucleare.

I sali di Cd trovano impiego in campo fotografico e nella fabbricazione di fuochi artificiali, gomme, vernici fluorescenti, vetri e porcellane, nella produzione di accumulatori elettrici al Ni-Cd e nella costruzione di apparati radiofonici e televisivi.



Figura 4. Batteria Ni-Cd

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

Il Cd viene impiegato inoltre nella produzione di vernici e pigmenti (giallo di Cd) e come stabilizzatore nell'industria di materiale plastico (pvc).

Anche l'industria aerospaziale si avvale di miscele di solfuro di Cd e Zn come tracciante atmosferico.

In medicina il Cd, come altri ioni, serve come rivelatore delle immagini nella tomografia assiale computerizzata (TAC o TC).

Il Cd viene utilizzato anche per la produzione di fanghi di depurazione e di presidi fitosanitari per l'agricoltura come pesticidi e fungicidi ed in molti fertilizzanti quali i concimi fosfati.

Sono molto numerosi i materiali insospettabili che lo contengono come ad esempio il tabacco le cui foglie lo assorbono dal suolo e dall'acqua di irrigazione per essere poi rilasciato nell'ambiente con il fumo; i forti fumatori assorbono approssimativamente il doppio del Cd assunto da tutte le altre fonti da parte dei non fumatori.

Lo si ritrova anche nelle protesi dentarie, nelle ceramiche e nelle stoviglie, nelle sostanze antiruggine, nei prodotti di scarto delle gomme ed infine anche nell'acqua potabile soprattutto quella dolce, in quanto le tubature metalliche degli acquedotti realizzate con il ferro galvanizzato possono con il tempo rilasciare il Cd nell'acqua.

Anche oggetti in ceramica di fabbricazione artigianale e di provenienza lontana o sconosciuta (ricordi di viaggi o vacanze) spesso possono essere una fonte di cessione di Cd.

Per avere un'idea concreta della quantità di Cd che ogni anno viene riversata nell'ambiente basti pensare che annualmente vengono introdotte sul mercato UE circa 190.000 tonnellate di batterie per uso industriale e 160.000 tonnellate di batterie per uso domestico. Ogni anno in Italia si consumano circa 300 milioni di pile

## **I.8 Il Cd in Sardegna.**

In Sardegna l'attività mineraria è stata la maggiore responsabile della contaminazione ambientale da metalli pesanti rappresentando una problematica attuale che interessa i vasti territori del centro e del sud dell'isola dove fin dagli anni 60' si ebbe il più importante sviluppo dell'economia e dell'industria.

L'area maggiormente interessata da tale attività è quella del Sulcis-Iglesiente, zona in cui si estraevano la sfalerite e la galena.

Il territorio del Sulcis-Iglesiente occupa la regione sud-occidentale della Sardegna e deve il suo nome all'antica città di Sulci nell'isola di S.Antioco.

La storia del Sulcis e dell'Iglesiente è da sempre legata all'attività estrattiva mineraria praticata fin da epoca nuragica ma che nell'Ottocento ebbe uno sviluppo tumultuoso caratterizzando per quasi un secolo l'economia del territorio.

L'attività di estrazione mineraria era già praticata da Fenici, Punici e Romani i quali ne intuirono l'enorme potenziale: i geografi della Roma imperiale parlavano della città di Metalla, peraltro mai indicata con precisione nelle carte del tempo. Successivamente toccò ai Pisani e agli Spagnoli sfruttare i giacimenti ma è nel XIX secolo, in seguito all'intervento dei Savoia, che le miniere di Monteponi, nel territorio di Iglesias, e di Montevecchio (frazione di Guspini, nella Provincia del Medio Campidano) diventarono le capitali minerarie sarde che fecero estendere la legislazione mineraria piemontese a tutta la Sardegna. L'attività mineraria raggiunse l'apice durante il Fascismo anche grazie all'apertura della miniera carbonifera di Serbariu e alla fondazione della città di Carbonia.

Questo territorio è stato il bacino minerario più importante d'Italia e d'Europa e Guspini, Arbus, Montevecchio, Ingurtosu, Buggerru, Iglesias, Fluminimaggiore e tanti altri sono stati e sono tuttora paesi minerari.

I ruderi di miniere e costruzioni, tangibili esempi di archeologia industriale in Sardegna, sono ancora ben visibili in molti siti e sono al centro del piano di rilancio che ha portato nel 1997 alla costituzione del Parco Geominerario Storico e Ambientale della Sardegna, che insieme a quelle del Sulcis e dell'Iglesiente, comprende anche altre aree sparse in tutta l'isola come quelle di Orani e Argentiera-Nurra, Funtana Raminosa, Guzzurra-Sos Enattos, Serrabus-Gerrei.

Negli anni 80' la cessazione di tali attività minerarie ha lasciato in eredità una grande quantità di scorie prevalentemente chimiche e metallurgiche che lentamente stanno avvelenando la Sardegna.

Per l'inquinamento da metalli pesanti il problema è dato dalla presenza di numerosi bacini di decantazione dei fanghi di laveria e di cumuli di rifiuti metallurgici che costituiscono un accertato danno ambientale ed un potenziale rischio per la salute.

I residui delle lavorazioni infatti sono attualmente senza misure di protezione e soggetti all'azione battente dell'acqua e dei venti che hanno determinato l'erosione e la diffusione dei metalli pesanti nei reticoli idrici più superficiali ma anche nelle falde più profonde.

L'inquinamento che si instaura quindi è sia superficiale che profondo, poco evidente ma pericoloso nel tempo. Si è dimostrato, attraverso prelievi ed analisi ripetute delle acque vicine ai siti minerari, che il letto di tutti i corsi d'acqua presenta ancora oggi una significativa concentrazione di metalli pesanti.



A fondo valle della miniera di Montevecchio, per esempio, i suoli prelevati hanno presentato alte concentrazioni di Cd, Pb, Zn (Cd=35,4 ppm, Pb=3266 ppm, Zn=0,1495 ppm ).

## **I.9 Valori del Cd**

Secondo quanto riportato dalla World Health Organization (WHO) e dalla Food and Agriculture Organization (FAO) delle Nazioni Unite nel 2003 la quantità di Cd che può essere ingerita settimanalmente da un adulto è pari a 500 µg, cioè 7 µg/kg di peso corporeo corrispondente 1 µg/kg al giorno e si considera mortale una dose pari a 100 µg/dl.

Il limite massimo ammissibile nelle acque potabili è di 3 µg/l (D.M. del 29/12/2003).

L'acqua potabile contiene in genere basse concentrazioni di Cd con un valore di 1 µg/l o inferiore, quindi l'acqua è una fonte di Cd insignificante in confronto al contributo della dieta (WHO/IPCS, 1992).

Nelle acque marine non contaminate la sua concentrazione non deve superare il valore di 0.04/0.3 mg/l.

Negli alimenti la concentrazione media non deve superare lo 0.04-0.05 mg/kg.

## I.10 Accumulo di Cd

Per monitorare le concentrazioni di Cd nell'ambiente si utilizzano particolari "bioindicatori", cioè fattori altamente sensibili a sostanze inquinanti, la cui morte o sopravvivenza è considerata indicativa della presenza o assenza dell'inquinante stesso.

Per il monitoraggio delle acque sono ottimi bioindicatori alcune specie di alghe marine come la *poseidonia oceanica spiaggiata*, nella quale il contenuto di metalli pesanti, tra cui il Cd, è proporzionale al livello di inquinamento marino.

Altri indicatori precoci ed affidabili sono i molluschi bivalvi come il *mithilus* ssp, il *gallo provincialis*, le ostriche e le cozze, che filtrano ed accumulano il Cd ed anche il Hg.

Nella catena trofica, al 1° livello si collocano le piante acquatiche, seguite dai molluschi e dai crostacei e quindi dai pesci.

Questi vertebrati sono sensibili anche a basse concentrazioni di Cd (1.2 µg/l-0.4 µg/l ) il quale si accumula nei muscoli raggiungendo nel tempo valori tossici e ripercuotendosi sul resto della catena alimentare e quindi anche sull'uomo.

Quindi proprio attraverso la catena alimentare contaminata si possono innescare/attivare nell'uomo meccanismi patogenetici estremamente pericolosi.

A questo proposito si è manifestato già da tempo un crescente interesse nell'applicazione di tecniche "voltammetriche di stripping" particolarmente sensibili ed adatte alla ricerca di metalli pesanti, presenti in tracce, in matrici alimentari.

Tali tecniche, mediante l'uso di proteine complessanti come la caseina, la lattalbumina e le lattoglobuline, hanno messo in evidenza la presenza di metalli pesanti e tra questi il Cd in matrici alimentari dove spesso sono contenuti in tracce. (117)

## **I.11 Gli oligoelementi**

Come precedentemente esposto i vari elementi vengono classificati in essenziali e non essenziali.

Diversi fattori concorrono a dimostrare l'essenzialità di un elemento:

- la mancata assunzione dell'elemento causa certamente dei danni a livello organico
- la sua reintroduzione nella dieta in quantità fisiologiche deve prevenire e curare i sintomi da carenza alimentare
- la sua totale assenza deve impedire lo sviluppo fisiologico dell'organismo
- la sua influenza sul metabolismo deve essere diretta
- la sua funzione biologica non può essere totalmente sostituita da un altro elemento anche se strutturalmente simile.

In generale anche se gli oligoelementi sono coinvolti in funzioni o strutture molteplici e diversificate, si può affermare che il loro ruolo principale è quello coenzimatico in circa 25/30% degli enzimi attualmente conosciuti; quindi un deficit significativo o un aumento della concentrazione possano indurre effetti tossici con conseguenze patologiche.

Per gli elementi in traccia come il Cd, solo un apporto elevato è in grado di determinare la comparsa di effetti dannosi per la salute e in generale tali effetti sono tanto più marcati quanto più alta è la dose. (47, 56, 62).

## **I.12 Bioaccumulo di Cd**

Gli elementi in traccia e i loro derivati organometallici vengono assorbiti dagli organismi viventi per mezzo di vari meccanismi, concentrati in organi bersaglio ed in seguito escreti.

Il bioaccumulo costituisce il rapporto tra i livelli di un elemento in un organismo, e la quantità dello stesso nell'ambiente dove l'organismo vive, o delle varie specie di organismi animali o vegetali di cui quell'organismo si nutre.

Mentre nell'uomo e negli animali da allevamento il problema del bioaccumulo può essere controllato con analisi limitate alla dieta somministrata, per gli animali selvatici il problema è assai più complesso e può essere valutato solo in base all'entità dell'inquinamento ambientale.

Il Cd è piuttosto diffuso nell'ambiente marino. In particolare, è stato recentemente inserito tra i veleni endocrini in quanto esercita effetti tossici sulle funzioni riproduttive dei pesci. Negli organismi che utilizzano le branchie come principale via di assorbimento, il Cd viene bioaccumulato in relazione diretta alla sua concentrazione nell'acqua di mare. (123)

Il bioaccumulo di metalli pesanti nell'organismo ha una notevole azione tossica, che si manifesta con forme patologiche caratteristiche a carico di vari organi e tessuti.

Il suo accumulo non conosce un limite soglia o un meccanismo omeostatico di controllo, quindi il contenuto del metallo varia in proporzione al variare delle quantità ingerite.

E' stato osservato che il Cd è un tossico cumulativo, con emivita stimata di circa 16 anni per il contenuto corporeo normale.

Il Cd viene escreto dall'organismo in circa 35-40 anni.

In particolare l'emivita del Cd nel sangue è di due ore (79), nel fegato e nel rene di 15-20 anni.

Per lo studio delle diverse fasi di assorbimento, distribuzione, biotrasformazione ed escrezione del Cd sono stati proposti diversi modelli metabolici multicompartimentali, i quali hanno permesso di stabilire il ciclo che il metallo compie nell'organismo e i compartimenti nei quali si distribuisce in seguito all'assorbimento.(12, 21)

### **I.13 Vie di assorbimento**

Nella popolazione professionalmente esposta la principale via di assorbimento è quella inalatoria: vapori, fumi o polveri di ossido di Cd derivanti da processi di combustione e da lavorazioni industriali si accumulano nell'atmosfera con una dose assorbita che va dal 10 al 40% a seconda che si tratti di polveri o fumi e dalle dimensioni del particolato; la via respiratoria è importante anche durante l'esposizione extra-professionale rappresentata dal fumo di tabacco, nella quale il metallo viene vaporizzato durante la combustione.(50, 114)

Le sigarette possono contenere fino a 1,2 µg di Cd di cui il 10% viene assorbito dai polmoni.

Nell'esposizione industriale un ruolo meno importante ma non trascurabile ricopre la via gastrointestinale con una dose assorbita che va dal 2 al 10%.

Per la popolazione generale la via gastrointestinale è la principale via di assorbimento. (50%).

Il Cd viene assorbito in seguito all'ingestione di alimenti contaminati all'origine quali grano, riso, acqua potabile o di cibi e bevande contaminati dai contenitori alimentari in ceramica o colorati con pigmenti contenenti Cd. Spesso sono stati riscontrati assorbimenti accidentali dovuti all'ingestione di cibi e bevande lievemente acide, preparate e conservate in recipienti cadmiati di recente in quanto come già detto il Cd è solubile negli acidi.

Negli animali le fonti di Cd sono strettamente legate alla contaminazione ambientale rappresentata dai foraggi, dalle acque contaminate ma anche dai prodotti come acaricidi e pesticidi utilizzati per "bonificare" l'ambiente.

Tra i molluschi sono soprattutto le ostriche e le cozze a filtrare ed accumulare meglio il Cd.

I dati del MEDPOL riferiscono che nell'Adriatico i livelli di concentrazione di Cd nei tessuti molli delle cozze, hanno subito un'impennata tra il 2000 ed il 2003 raggiungendo valori di 0.4 -1.2 mg/Kg di peso, superando di 8 volte i livelli registrati negli ultimi 20 anni.

Tra i vegetali quelli che presentano maggiori concentrazioni di Cd sono i prodotti agricoli, in particolare cereali come grano e riso.

Uno studio realizzato dall'università di Parma ha rilevato che anche prodotti come il miele, considerati particolarmente puri, contengono ormai rilevanti concentrazioni di Cd.

L'assorbimento per via digestiva ha minore rilevanza a causa del potente effetto emetico del metallo che ne limita notevolmente la tossicità ed inoltre è influenzato da diverse variabili quali la dimensione delle particelle ingerite, il pH, la velocità di transito gastroenterico, la contemporanea ingestione di altri cibi, la solubilità del composto metallico e le interferenze con altri metalli; il suo assorbimento aumenta nelle diete povere di Ca, vitamina D, Fe e proteine e diminuisce in diete ricche di Zn.

Bisogna infatti ricordare che il Cd da un punto di vista chimico e metabolico presenta una stretta affinità con lo Zn e molti sintomi della tossicità da Cd sono simili a quelli da carenza di Zn. (23, 52)

L'assorbimento per via digestiva causa evidenti lesioni infiammatorie della mucosa orale ed alterazioni del colore dei denti. Avvenuto l'assorbimento, il metallo si distribuisce in diversi tessuti e organi bersaglio in forma libera o legata, tra cui quelli maggiormente interessati sono il fegato ed il rene che nel complesso possono contenere oltre il 75% del Cd totale. (122, 124)

Secondo molti studiosi nella popolazione non esposta professionalmente, le concentrazioni di Cd in questi organi aumentano con l'età ma tendono a stabilizzarsi intorno a 60 anni, probabilmente per un diminuito consumo di cibo e per cambiamenti fisiologici a livello della corteccia renale.

Altri organi deposito sono i polmoni, l'ipofisi, il pancreas, la tiroide, i muscoli, i testicoli, le ghiandole salivari ed il tessuto osseo. (1, 42, 47, 97)

I legami proteici a livello plasmatico, tissutale e cellulare regolano la diffusibilità del metallo nel plasma, nei tessuti, nel fluido interstiziale ed intracellulare.

Il legame a livello tissutale è importante perché essendo ad alta affinità può, entro certe concentrazioni, neutralizzarne la tossicità fungendo da deposito inerte.

Non esistendo un meccanismo di controllo omeostatico sui livelli di Cd nei tessuti, il contenuto del metallo varia proporzionalmente al variare della quantità ingerita e, dopo aver superato il potenziale di legame, il metallo accumulato può passare nella quota plasmatica diffusibile e raggiungere i siti d'azione.

Nel sangue il Cd si lega per circa 90% all'emoglobina ed alla tioneina.

La tioneina è un  $\alpha$ -globulina ricca di cisteina e quindi di radicali sulfidrilici per il quale il metallo ha grande affinità.

Il Cd pertanto si lega alla tioneina formando il complesso Cd-tioneina o metallotioneina (Mt). (20)

La Mt è una proteina di trasporto a basso peso molecolare altamente specifica, che veicola il Cd al fegato e da questo ad altri organi, soprattutto ai reni per i quali ha un tropismo elettivo molto stabile conferendo al Cd la sua lunga emivita biologica.

Data la sua elevata capacità di legare il Cd e lo Zn, la Mt sequestra il metallo impedendo il legame a siti funzionali più delicati, riducendone considerevolmente la tossicità.

Nel sangue l'azione tossica si manifesta con il blocco dei gruppi sulfidrilici di enzimi essenziali e conseguente inibizione della biosintesi dell'eme; ha un'emivita di oltre due ore, si accumula negli eritrociti ed è causa, ad alti dosaggi, di una caduta del contenuto emoglobinico e di una riduzione del numero dei globuli rossi.

Sono stati condotti vari studi sulle concentrazioni di Cd a livello placentare nelle donne in stato di gravidanza (22, 132); i risultati hanno evidenziato come il metallo riesca ad attraversare la barriera placentare inducendo la sintesi della Mt e proteggendo il feto dal suo accumulo. Al termine della gravidanza la concentrazione del Cd nella placenta è circa 10 volte minore di quella del sangue materno; anche il latte contiene bassissime quantità di Cd per cui il neonato non è esposto al pericolo di un primitivo accumulo per via alimentare.

La Mt ha quindi lo scopo di proteggere il sistema enzimatico cellulare ed è il principale mezzo di trasporto del Cd nel corpo in quanto il legame è altamente selettivo per questo metallo.



## **I.14 Intossicazione da Cd**

L'intossicazione da Cd può essere acuta o cronica. L'intossicazione acuta si ha in genere in seguito all'inalazione di alte concentrazioni di polveri, fumi o particelle maggiori di  $5\mu$  ricche di Cd. Si manifesta a distanza di 4-6 ore dall'inalazione e il paziente presenta sintomi evidenti a carico dell'apparato respiratorio quali tosse, dispnea, cianosi, irritazione tracheo-bronchiale, sensazione di oppressione toracica nonché cefalea. (90, 91, 111).

Il quadro anatomico-patologico evidenzia lesioni proliferative negli alveoli con edema ed ispessimento dei setti interalveolari; si instaura il quadro di una polmonite chimica di tipo irritativo che porta a morte circa il 20% dei pazienti dopo solo due o tre giorni dall'esposizione.

I soggetti che riescono a superare l'evento acuto non presentano sequele polmonari.

Le intossicazioni acute sono molto rare, anche perché in seguito ai casi letali verificatisi in passato, i controlli sono più accurati; sono invece ancora pericolosissimi gli effetti dovuti a lunga esposizione od intossicazione cronica.

L'intossicazione acuta può avvenire anche per via alimentare, per ingestione di cibi o bevande conservati in contenitori cadmiati di recente, o a seguito di pasti consumati da operai addetti alla manipolazione di elettrodi sottoposti a saldatura.

Gli effetti acuti si manifestano con crampi epigastrici, nausea, vomito anche sanguinolento, diarrea, mialgie, lesioni epato-renali e coronariche, dei gangli sensoriali, dei testicoli, del pancreas e varie alterazioni teratogene.

Apparentemente la mortalità risulta bassa per questa via di assorbimento in quanto il Cd ha un effetto emetico; sono stati registrati casi di intossicazione

acuta mortale a seguito dell'ingestione di circa 5 g di ioduro di Cd. I pazienti presentavano sintomi quali gastroenterite emorragica, anuria, parotite, compromissione cardio-respiratoria con decesso al settimo giorno dall'insorgenza della sintomatologia.

L'intossicazione cronica ha come manifestazioni principali ma non uniche, la nefropatia tubulare, l'enfisema polmonare, l'osteoporosi e l'osteomalacia. (54, 73)

Le manifestazioni croniche sono causate da una lunga esposizione all'agente tossico e coinvolgono un maggior numero di distretti corporei. E' sempre colpito l'apparato respiratorio, in quanto i polmoni sono uno dei principali filtri del nostro organismo; tali organi presentano solitamente fenomeni di irritazione bronchiale e molto spesso enfisema, che compare di solito dopo la nefropatia e dopo un'esposizione di circa 15-20 anni. Il Cd nel tempo tende ad irritare anche le mucose delle prime vie respiratorie, inducendo ipoosmia e riniti; si manifestano anche sindromi ostruttive e restrittive, inclusa la fibrosi polmonare. Nella valutazione clinica del paziente bisogna sempre considerare l'eventuale abitudine al fumo che può fortemente potenziare l'azione dannosa del Cd nell'induzione di patologie croniche.

A livello gastroenterico il Cd può dare anemia moderata per interferenza con il trasporto del Fe negli enterociti e danno epatico modesto con lieve riduzione della capacità metabolica epatica.

Segno clinico molto caratteristico è la colorazione gialla dello smalto dei denti che compare ad anello sul colletto del dente e si estende verso il basso escludendo dall'impregnazione l'apparato gengivale. Il colore dei denti varia da un color giallo chiaro al bruno dorato; questa alterazione cromatica è considerata un segno clinico precoce di intossicazione che si manifesta entro 2 anni dall'esposizione cronica al metallo.

A livello renale si manifesta una disfunzione glomerulare, in un periodo di latenza che va dai 10 ai 20 anni: si tratta di una nefropatia da Cd ad evoluzione lenta. (95)

Dal punto di vista anatomico-patologico si osserva un'iniziale alterazione dei glomeruli e dei tubuli prossimali (10, 120) che porta ad una proteinuria a basso peso molecolare con enzimuria che determina una riduzione del riassorbimento tubulare per una aumentata permeabilità dell'epitelio.

Si avrà quindi:

- a) proteinuria a basso peso molecolare, soprattutto proteine tubulari
- b) immunoglobuline, proteine unite al retinolo
- c) proteine specifiche come la  $\beta$ 2-microglobulina urinaria ( $\beta$ 2M), proteina a basso peso molecolare che si rileva nelle urine degli intossicati cronici ed è un indice di lesione tubulare molto affidabile.
- d) proteine enzimatiche come il lisozima suggestivo di un danno lesivo a carico delle cellule epiteliali delle vie urinarie.

Oltre alla proteinuria si manifesta nel tempo anche la calciuria sia perché i tubuli renali gradatamente perdono la loro capacità riassorbente e sia perché il Cd altera il metabolismo dello ione  $\text{Ca}^{2+}$  favorendone la mobilizzazione dal tessuto osseo, con conseguente ipercalcemia, ipercalciuria e iperfosfaturia.

Alcuni autori sostengono che sia possibile la reversibilità della nefropatia soprattutto nelle fasi iniziali, quando la tubulopatia è scarsamente evolutiva e quindi potrebbe regredire con la sospensione dell'esposizione al metallo. Il danno renale si manifesta dopo il superamento di circa 200-240 mg per g di tessuto corticale, pari a 31g di Cd per l'intero rene.(35)

La patogenesi del danno renale si sviluppa in due fasi. La prima fase è detta fase di adattamento: i tubuli renali presentano un aumento del reticolo

endoplasmatico liscio, del numero di lisosomi e della concentrazione di Mt. La seconda fase è detta fase tossica ed è caratterizzata da edema e necrosi delle cellule tubulari e comparsa di proteinuria a basso peso molecolare. Finché la funzione renale è conservata il Cd legato alla Mt ritorna in circolo, viene filtrato dai glomeruli e riassorbito nel tubulo prossimale; quando la funzione renale viene progressivamente perduta il complesso Cd-Mt viene escreto con le urine.

Il Cd si accumula nel rene fino a tarda età, finché non inizia la fisiologica riduzione della funzione renale legata all'invecchiamento; ciò spiega perché l'urina dei soggetti anziani contiene quantità maggiori di Cd rispetto ad un soggetto giovane.

Per quanto riguarda gli effetti del Cd sul sistema cardiovascolare l'effetto ipertensivo diretto è stato dimostrato solo sperimentalmente su animali da laboratorio.

Nell'uomo non sono ancora stati chiariti completamente gli effetti tossici provocati dal metallo ed il suo ruolo nell'insorgenza di ipertensione arteriosa. (90, 91, 105) I dati sperimentali sembrano deporre per la nocività dell'esposizione a basse dosi di Cd, ma anche i fattori genetici, la familiarità, l'età e l'abitudine al fumo sembrano avere una certa importanza. Ulteriori ricerche hanno evidenziato che esisterebbe una stretta correlazione tra i livelli di Cd atmosferico e mortalità per patologie cardiovascolari ed incidenza di arteriosclerosi, che sembra essere più elevata nei i popoli che usano abitualmente acque dolci notevolmente più ricche di Cd e Pb rispetto a quelle dure.

Sul sistema cardiovascolare l'esposizione cronica a basse dosi, può danneggiare il microcircolo generando un ispessimento dei piccoli vasi e dei capillari e riducendo la circolazione.

Svariati studi hanno focalizzato l'attenzione sui possibili effetti tossici dovuti all'esposizione prenatale al Cd. È noto che il metallo si accumula a livello della placenta (71) e l'abitudine materna al fumo di sigaretta aumenta la concentrazione placentare di Cd ed agisce sulla morfologia della placenta. (22) È stato dimostrato che donne esposte al Cd attraverso il fumo di sigaretta hanno figli con ridotto peso alla nascita (71) con possibile prematurità o deformità del feto probabilmente a causa del danno placentare e/o disfunzione nel trasporto dei nutrienti.

L'anemia da Cd è un'anemia moderata normo o ipocromica, con riduzione delle resistenze osmotiche e della vita media degli eritrociti. (25, 33) Secondaria al danno renale è l'alterazione del metabolismo fosfocalcico che sembra essere alla base delle alterazioni sul tessuto osseo.

L'apparato scheletrico viene coinvolto in toto dall'intossicazione cronica. (60)

In lavoratori esposti al metallo, ma anche in lavoratori non esposti ad alte concentrazioni atmosferiche di Cd ma con carente apporto di Ca, sono stati riscontrati danni all'apparato scheletrico caratterizzati da osteoporosi, fratture spontanee e osteomalacia. (66)

I pazienti accusano forti dolori reumatici, alterazioni articolari e mialgie.

Tale sintomatologia fu segnalata per la prima volta nel 1946 in Giappone (Jintsu), in cui la principale sorgente alimentare è basata ancora oggi sulla coltivazione di riso; tale cereale veniva coltivato in risaie la cui acqua di irrigazione veniva attinta da un fiume contaminato alla sorgente da scarichi derivanti da un'industria in cui si effettuava l'estrazione e la fusione del Cd dallo Zn. L'utilizzo costante e continuato dell'acqua causò una sindrome localmente detta "ITAI\_ITAI"(cioè "ahi-ahi dal grido di dolore di chi ne era affetto) che comportava: osteomalacia, fratture patologiche, dolori

reumatoidi, mialgie, dolori articolari acuti, alterazioni e danni renali con secondarie alterazioni a carico del metabolismo del Ca e del P. Questi ioni venivano sistematicamente sostituiti a livello osseo, a seguito dell'ingestione continuativa di riso e acqua contaminati da Cd, e nell'osso lo ione  $Cd^{2+}$  (con uguale carica elettrica) sostituiva lo ione  $Ca^{2+}$ ; la risultante era l'alterazione profonda della normale architettura ossea che ad esami radiologici risultava porosa, fragile e poco resistente .



Figura 5. Soggetto affetto dalla sindrome “itai-itai”

Quindi il Cd costituisce un grave fattore di rischio nel promuovere l'insorgenza e lo sviluppo del processo osteoporotico anche a basse dosi di somministrazione.

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

Tuttavia queste patologie insorgono solo in concomitanza con altre concause quali la scarsa alimentazione e la modificazione del metabolismo della vitamina D, di cui il Cd è senza dubbio un responsabile.

Per spiegare gli effetti del Cd sullo scheletro sono stati suggeriti diversi meccanismi: alcuni studiosi sono giunti alla conclusione che l'alterazione del metabolismo fosfocalcico sia secondario al danno renale come già detto prima, con conseguente incremento della perdita di Ca e diminuita idrossilazione della vitamina D.

Altri ricercatori hanno suggerito che il Cd possa rallentare la formazione di nuovo tessuto osseo in seguito a destabilizzazione del collagene, o per alterazione della sintesi diretta o per inibizione dell'enzima lisillossidasi.

Una terza possibilità è che il Cd essendo un forte antagonista del Ca stimoli il processo di riassorbimento osseo sia in vivo che in vitro.

Ciò sarebbe dimostrato anche dal fatto che in colture di midollo osseo il metallo è in grado di stimolare la produzione di osteoclasti ed a livello osteoblastico, di bloccare il processo di mineralizzazione inibendo l'attività della fosfatasi alcalina ossea e il deposito di sali di Ca.

L'attività tossica del Cd è stata messa in evidenza anche nei confronti della cartilagine con effetto diretto sulle vie di differenziazione dei condroblasti.

A livello testicolare si è visto che, se si somministra per via parenterale circa 1 mg di Cd, il metallo induce la necrosi; questo invece non accade se, in precedenza, sono state somministrate dosi ripetute del metallo in grado di stimolare la sintesi della metallotioneina.

Sul sistema nervoso i danni indotti dal Cd sono rappresentati da polineuropatia periferica (127) e da lesioni a livello dei gangli basali che esitano in parkinsonismo (92) e più in generale da disordini psicologici.

Le reazioni allergiche da Cd sono rappresentate dalla dermatite allergica da contatto, soprattutto in soggetti esposti per motivi professionali, come fabbri, ferrai e smaltatori-decoratori, e dalla Burning Mouth Syndrome (BMS) in soggetti portatori di protesi dentarie. (80)

Si ipotizza anche che il cadmio possa avere effetti sull'integrità dell'endotelio corneale (131) ed infine che possa danneggiare il sistema immunitario e causare problemi riproduttivi e persino l'infertilità. (119)

Vittime dell'inhalazione da metalli pesanti furono due famosi pittori: Vincent van Gogh (1853-1890) e Francisco Goya (1746-1828).

Vincent van Gogh è considerato oggi "il pittore malato". La natura della sua malattia, che si manifestò prima dei trent'anni, è stata oggetto di numerose ricostruzioni e interpretazioni diagnostiche.

Alcuni studi [Lee, 1981; Lanthony, 1989; Arnold, 1991; Elliot, 1993] hanno tentato di mettere in relazione la malattia di Van Gogh con la sua passione per il colore giallo, che predomina nelle tele del periodo francese. Offuscando la sua reale creatività questi autori sostengono che i colori caldi e così "veri" gli furono ispirati soprattutto dalle allucinazioni visive, in grado di alterare il senso cromatico e la percezione di forma e dimensione.

Si ipotizza che negli anni il pittore avessero ingerito ed inalato notevoli quantità di Cd, inumidendo ripetutamente le punte dei pennelli con la saliva, e inalando quotidianamente le micropolveri presenti nei laboratori dove trascorreva gran parte della giornata.





Figura 6 I Girasoli

Francisco Goya fu affetto da un'encefalopatia, dovuta ad intossicazione da Pb e Cd, che gli provocò sordità e alterazione della personalità. Dapprima la sua malattia lo ostacolò in ogni attività e fu la causa di una profonda depressione.

Quando ricominciò a dipingere i suoi quadri erano popolati da figure da incubo.

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

## **I.15 Carcinogenesi nell'uomo.**

Il Cd è un metallo pesante di interesse ambientale e professionale e a causa delle sue caratteristiche la International Agency for Research on Cancer (IARC) e il Programma Nazionale di Tossicologia degli U.S.A. l'hanno classificato come "cancerogeno di categoria 1".

Molti studi hanno messo in relazione l'esposizione professionale al Cd con il carcinoma polmonare umano.

Diverse ricerche contemplano una certa rilevanza del Cd nei tumori prostatici e renali, (68, 57) mentre secondo altri sarebbe implicato nei tumori del fegato, del sistema emopoietico, della vescica e dello stomaco. (72, 84)

C'è anche il sospetto che il Cd possa avere un ruolo nella genesi del carcinoma pancreatico ma ciò non è stato ancora dimostrato.

La chiara relazione tra esposizione occupazionale al Cd e l'insorgenza del carcinoma polmonare, rappresenta il presupposto sul quale diversi organismi di controllo lo hanno dichiarato come sostanza cancerogena. (50, 51)

D'altra parte il Cd è effettivamente un cancerogeno multi-tissutale nell'animale.

La sua lunga emivita nell'organismo ne fa una tossina cumulativa che induce una serie di effetti collaterali tra cui l'insorgenza di tumori.

Da un punto di vista epidemiologico alcune limitazioni esistenti sono dovute alla poca informazione riguardanti le esposizioni lavorative ed i singoli individui; bisogna anche tenere presente che la popolazione non è esposta esclusivamente al Cd, ma a molti altri importanti inquinanti –tossici quali il fumo di sigaretta, metalli cancerogeni come il Pb, polveri sottili, etc.

Per tale motivo non possono ancora essere tratte delle conclusioni definitive tra esposizione al Cd e citogenicità sull'uomo.

### **I.16 Carcinogenesi nell'animale.**

Per capire i meccanismi patogenetici del Cd sono stati realizzati molti esperimenti in vivo e vitro su animali da laboratorio selezionati; principalmente sono stati utilizzati ratti e topi, che hanno dimostrato avere differente risposta e resistenza ai trattamenti con il Cd.

Questa variabile resistenza all'esposizione da Cd è legata al diverso caratteristiche genetiche che rende le specie prese in considerazione più o meno suscettibili e sensibili agli effetti tossici del metallo sottolineando come la componente genetica sia capace di influire sulla capacità di contrastare lo sviluppo dei tumori.

Tale resistenza è stata provata, esponendo ratti, topi e criceti ad inalazioni croniche di Cloruro di Cd ad alte dosi, inducendo così un'intossicazione acuta a livello polmonare negli animali da laboratorio. Oltre il 90% dei ratti ha sviluppato carcinoma polmonare e per questi roditori il Cd risulta essere un cancerogeno polmonare effettivo; i topi invece hanno mostrato una resistenza molto superiore; questa ipo-sensibilità al Cd, rispetto ai ratti, è sostenuta da una base genetica diversa. (129)

Si è anche osservato come nell'organismo di questi topi ci sia una concentrazione di Mt superiore rispetto a quella riscontrata nei ratti nei quali la concentrazione è notevolmente ridotta e forse ciò potrebbe giustificare la loro maggiore resistenza nei confronti del carcinoma polmonare.

I testicoli del ratto sono risultati essere molto sensibili alla tumorigenesi indotta dal Cd; infatti si è visto che, se il metallo viene somministrato per via parenterale, induce rapidamente necrosi emorragica estensiva dei testicoli.

Dopo questa lesione tossica iniziale, si manifesta un'alta incidenza di tumori cellulari interstiziali con degenerazione cronica ed irreversibile del tessuto testicolare.

Nei topi invece si è visto che, somministrando le stesse dosi di Cd, si rileva al massimo un'iperplasia cellulare interstiziale.

Il fattore critico che determina la diversa resistenza alla tossicità da Cd nelle diverse specie di roditori è riconducibile all'origine genetica degli animali; questo è stato comprovato anche da studi realizzati su topi geneticamente modificati nei quali il ceppo è stato selezionato per esprimere geni poco resistenti alla tossicità testicolare indotta dal Cd nonostante la concentrazione di Mt fosse molto alta: i topi appartenenti a questo ceppo hanno sviluppato rapidamente delle lesioni testicolari. L'altro ceppo invece, nonostante le basse concentrazioni di Mt, a livello testicolare esprimeva geni fortemente protettivi nei confronti della tossicità indotta dal metallo e solo pochi elementi del gruppo sottoposto all'osservazione sviluppavano un'iperplasia cellulare. (119)

Analogamente al ruolo dei geni anche l'espressione della Mt, ha un compito notevole nella protezione e contenimento della suscettibilità alla carcinogenesi indotta dal Cd.

I risultati hanno dimostrato ancora una volta una resistenza specie/specifica per i topi, nei quali non si è sviluppato tumore polmonare e le concentrazioni di Mt risultavano molto elevate in questo tessuto, a

differenza dei ratti nei quali la bassa espressione del gene per la Mt è alla base della elevata sensibilità del tessuto polmonare alla tumorigenesi da Cd. Questi dati confermano ancora una volta come la Mt sia una proteina protettiva fondamentale che lega selettivamente il Cd , riducendone così i suoi effetti tossici e prevenendo il potenziale sviluppo di tumori.

Molti composti del Cd in associazione con sostanze genotossiche ambientali, possono avere diversi effetti negativi anche sulla espressione aberrante di geni deputati alla regolazione del ciclo cellulare, responsabili della riparazione dei danni del DNA, che modulano le reazioni delle cellule agli stress ossidativi, che regolano l'apoptosi cellulare e che sono deputati a correggere errori di duplicazione del DNA, etc. (49)

Questi squilibri sono stati evidenziati attraverso studi sperimentali realizzati su cellule di mammifero in vitro dove si è osservato che il Cd può indurre a livello genico “uno stress” che si traduce in una disregolazione di oncogeni, i quali attivano una proliferazione cellulare esagerata, dando luogo ad un'iperplasia cellulare che può evolvere in una neoplasia vera e propria.

Infatti gli oncogeni su cellule normalmente quiescenti inducono l'attivazione della trascrizione di geni che modulano le diverse fasi di crescita, divisione e differenziazione cellulare ed influenzano il processo apoptico che in queste cellule viene inibita e totalmente bloccata, comportando in vitro il fenomeno della “immortalità cellulare” che è alla base della neoplasia.

Questo può essere considerato il momento cruciale per il quale, se gli stimoli tossici continuano nel tempo, possono seguire ulteriori eventi mutevoli che inducono la tumorigenesi.

Non si è attualmente a conoscenza se sia il Cd ad indurre potenzialmente le prime fasi di inizio della carcinogenesi o se il metallo agisca solo a stadi più

avanzati, accelerando la trasformazione delle cellule in senso maligno e stimolando l'insorgenza di nuovi tumori.

Si è visto però che in vitro, sulle cellule esposte in precedenza a fattori estremamente tossici come quelli presenti nel fumo di tabacco, il Cd agisce in modo simile ad un promotore di tumore; per ciò questo metallo, potenzialmente, potrebbe avere effetti dannosi su tutti i diversi stadi di un processo carcinogenico, l' inizio, la promozione e la progressione del tumore.

Il Cd, a differenza di altri metalli tossici, non partecipa a reazioni chimiche che producono molecole di O<sub>2</sub> reattivo e che hanno effetti lesivi sul DNA cellulare, ma induce in modo indiretto e non ancora del tutto chiaro, uno stress ossidativo cellulare ed in particolare la perossidazione dei lipidi.

D'altra parte si è osservato che l'organismo, in seguito a vari stress quali l'ipertermia o l'esposizione a prodotti chimici tossici, incluso il Cd, si difende attivando geni che inducono la sintesi di proteine enzimatiche con proprietà antiossidanti che proteggono la cellula.

Ovviamente, se l'esposizione cellulare al Cd diventa cronica e l'organismo continua quindi ad assimilare il metallo, può accadere che la tossicità del Cd prevalga sull'azione difensiva dei vari enzimi detossificanti, i quali possono essere saturati e la loro azione essere depressa in modo significativo.

I radicali liberi continuano infatti ad essere prodotti con conseguente aumento della perossidazione dei lipidi e dei danni al DNA; anche questo momento è considerato importante per l'inizio della carcinogenesi cellulare.

E' stato dimostrato come il Cd alteri i diversi meccanismi deputati alla riparazione dei danni del DNA (taglio di basi alterate, ricombinazione, accoppiamento errato delle basi). (4, 56)

Se queste alterazioni nel tempo vengono accumulate senza mai essere corrette adeguatamente, la risultante non potrà che essere una compromissione massiva del DNA cellulare e dei geni in esso presenti e quindi uno squilibrio di base che porterà alla tumorigenesi.

Il genetista Thomas Kunkel e colleghi, del National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) degli Stati Uniti, hanno somministrato diverse concentrazioni di cloruro di Cd a cellule di lievito e umane. Nelle cellule del lievito, il Cd ha causato un aumento delle mutazioni di 2000 volte e fino al 50% di queste non venivano riparate.

Nelle cellule umane, il 28 % delle mutazioni spontanee non venivano corrette. In entrambi i casi, la dose di Cd necessaria per inibire il meccanismo di riparazione era molto bassa.

### **I.17 Tossicocinetica.**

L'assorbimento polmonare di Cd inalato va dal 10% al 50% (WHO/ IPCS, 1992). La media normale di assorbimento gastrointestinale va dal 3% al 7%. Nell'esposizione a lungo termine ma a bassi livelli, il Cd viene trasportato dal polmone o dal tratto gastro-enterico al plasma sanguigno e in questa prima fase si lega all'albumina formando il complesso Cd-albumina. Questo complesso viene catturato preferenzialmente dal fegato nel quale induce la sintesi della Mt, in concentrazioni direttamente proporzionali a quelle del metallo.

La sintesi della Mt rappresenta il meccanismo di difesa del corpo contro gli effetti tossici del Cd.

Il fegato ed il rene sono i principali organi di accumulo del Cd.

I neonati infetti sono virtualmente liberi da Cd ma durante la vita accumulano considerevoli quantità di Cd (circa il 40-80% del peso corporeo).

Sono diverse le ipotesi di studio che cercano di spiegare come il Cd e la Mt possano passare attraverso le membrane cellulari degli enterociti alla lamina propria e quindi ai capillari; in particolare uno studio (34) ha dimostrato che lo Zn ed il Cd competono per un trasportatore di membrana luminale negli enterociti.; questo trasportatore (mtp1) è stato identificato in una proteina trasportatrice di metalli e pare che la sua espressione sia regolata dallo status del ferro. Dato che la Mtp1 è in grado di trasportare i metalli quali Zn e Fe sembra logico postulare che sia un potenziale trasportatore anche di Cd.

Altre ricerche (38) hanno dimostrato che lo ione  $Cd^{2+}$ , sfruttando la stessa carica dello ione  $Ca^{2+}$ , riesce a passare facilmente attraverso i canali del  $Ca^{2+}$ , ed essendo di dimensioni inferiori, riesce a competere più efficacemente nel passaggio attraverso i canali, saturandoli e limitando l'ingresso del Ca nelle cellule e la sua assimilazione.

Il Cd nel sangue sinusoidale si lega a varie proteine quali albumina, ferritina, transferrina.

Si è ipotizzato che il Cd possa entrare nell'epatocita per endocitosi attraverso una delle proteine che trasportano il Fe grazie all'affinità che queste hanno per i cationi e quindi anche per il Cd.

Un'altra ipotesi (112), sostiene che gli ioni Cd entrino negli epatociti attraverso i canali del Ca presenti nella membrana sinusoidale.

Mishima e colleghi invece hanno dimostrato come l'accumulo di Cd nelle cellule del fegato diminuisce significativamente quando gli epatociti venivano trattati con Zn confermando il suo ruolo protettivo in quanto ne riduce l'assorbimento e la tossicità.



La maggior parte del Cd che si accumula nei reni è localizzato nei segmenti del neurone situati nella corteccia renale e nel segmento tubulare prossimale. (38)

I dati raccolti dagli studiosi hanno confermato che il Cd liberato nel compartimento luminale sia della porzione prossimale che distale del neurone, influenza la funzione assorbente delle cellule di questi segmenti.

IL Cd viene eliminato nelle urine e nelle feci; è stato stimato che l'escrezione fecale ed urinaria giornaliera costituisce rispettivamente lo 0.007% e lo 0.009% del peso corporeo.

## **I.18 Il Cd e l'ambiente.**

Il Cd è considerato uno dei metalli pesanti più pericolosi per l'uomo e l'ambiente; a causa della sua elevata dispersione ambientale lo si trova in aria, acqua, suolo e negli organismi animali e vegetali.

Il Cd è un metallo il cui impiego è abbastanza recente; prima della seconda guerra mondiale la richiesta era scarsa ed era associato alle attività industriali legate allo Zn ed al Pb.

Alcune regioni del pianeta sono così altamente inquinate che gli effetti tossici sulle popolazioni locali si sono manifestati in modo acuto e molto rapido.

Ne sono esempio il caso del Giappone precedentemente esposto e degli Inuit, una popolazione che vive nel Nord-Ovest del Canada e che ha come sorgente alimentare primaria la carne di caribù i cui organi sono estremamente contaminati da Cd.

Ancora oggi le zone del mondo con la più alta concentrazione di Cd sono il Giappone e l'Europa centrale e ciò strettamente correlato con le attività industriali.

### **I.18.1 Emissioni atmosferiche.**

Attualmente le principali cause di inquinamento atmosferico da Cd sono la combustione del carbone (industrie/riscaldamenti domestici), la combustione dei rifiuti (inceneritori), l'industria del cemento e la produzione di fertilizzanti, pesticidi e fungicidi.

Il Cd viene rilasciato nell'ambiente anche in seguito ai processi di incenerimento delle materie plastiche e di altri materiali che contengono questo elemento in forma di pigmento o come stabilizzante nonché in seguito al riciclaggio dell'acciaio placcato con Cd, data la volatilità di quest'ultimo.

Ogni batteria contiene circa 5 g di Cd, gran parte del quale si volatilizza e si disperde nell'ambiente quando le batterie, ormai esaurite, vengono incenerite con i rifiuti.

Nei fumi dell'inceneritore il Cd allo stato metallico tende a condensarsi in particelle più piccole, che vengono catturate con più difficoltà dai sistemi di controllo dell'inquinamento dell'impianto.

In alcune zone estremamente inquinate per la presenza di inceneritori e complessi industriali la concentrazione di Cd può arrivare a 60/70 mg/l.

Nelle zone rurali, dove il tasso di inquinamento è nettamente inferiore, la concentrazione media annuale di Cd nell'aria è di circa 300 µg/m<sup>3</sup> mentre nelle zone industriali è di circa 500 µg/m<sup>3</sup> alla settimana.

Per questo motivo, le amministrazioni hanno emesso ordinanze di raccolta differenziata delle pile Ni-Cd e in alcune zone è iniziato anche il riciclaggio dei metalli provenienti da tali batterie. Alcuni stati degli USA ed alcuni Paesi europei stanno adottando dei provvedimenti per rendere illegali le pile Ni-Cd; le industrie produttrici di batterie cercano di sostituirle al più presto con pile prive di Cd.

L'emissione di metalli pesanti nell'ambiente può produrre danni a livello globale, regionale o locale.

I venti hanno un ruolo importante nella diffusione e trasporto di tale metallo anche in zone molto distanti dai siti principali di inquinamento. Così in certe zone dell'Artico si sono riscontrati livelli di Cd molto simili a quelli di certe zone rurali degli U.S.A.

Il Cd dell'atmosfera contribuisce per circa 23% all'inquinamento delle acque in quanto viene trasportato dalle correnti atmosferiche anche a grandi distanze dai centri maggiormente urbanizzati.

### **I.18.2 Contaminazione dell'acqua.**

Il Cd presente nell'acqua deriva soprattutto dagli scarichi industriali e da quelli urbani e la maggiore concentrazione del metallo si rileva nei fiumi o nei laghi più prossimi alle zone maggiormente industrializzate.

Il Cd<sup>2+</sup> è idrosolubile, ma la presenza di ioni solfuro tende a precipitarlo come CdS, perciò, in genere, solo una piccola percentuale viene direttamente assunta dall'uomo dall'acqua potabile. Fanno eccezione gli individui che vivono in prossimità di miniere e di fonderie, in modo particolare quelle che producono Zn. Per la sua somiglianza chimica con lo

Zn, le piante assumono il Cd con l'acqua di irrigazione; lo spargimento sui campi coltivati dei fertilizzanti a base di fosfati, contenenti questo metallo in forma ionica come contaminante naturale, e dei fanghi degli impianti di depurazione dei liquami contaminati da Cd provenienti dagli scarichi industriali, incrementa il livello di tale elemento nel suolo e di conseguenza la sua concentrazione nelle piante.

### **I.18.3 Contaminazione del suolo.**

L'inquinamento causato dai metalli pesanti colpisce soprattutto l'ecosistema del suolo (podosfera).

L'accumulo del Cd nel suolo (a differenza di altri metalli come il Pb) è continuo e sistematico, così che anche i vegetali, tramite l'apparato radicale, lo assorbono in modo costante.

Chiamati in causa, oltre agli scarichi industriali, sono i pesticidi, i fertilizzanti utilizzati per migliorare le caratteristiche minerali del suolo.

Il fango può trasportare il Cd per lunghe distanze.

Anche attraverso l'aria il Cd si deposita sul suolo, sui vegetali, sulla frutta.

Attualmente la concentrazione media di Cd nel suolo urbano si aggira intorno a 1.0mcg/g, superando il limite stabilito di 0.3 – 0.6 mcg/g ed ogni 50-80 anni questa concentrazione raddoppierà.

Poiché l'assunzione del Cd da parte delle piante aumenta con il diminuire del pH del suolo, un effetto delle piogge acide è quello di incrementare la concentrazione del metallo negli alimenti.

I vermi di terra ed altri organismi essenziali per il terreno sono estremamente suscettibili all'avvelenamento da Cd. Possono morire a

concentrazioni molto basse causando alterazioni della struttura del terreno, minacciando l'intero ecosistema del suolo. Uno studio condotto dall'università di Bologna ha avuto come oggetto la beccaccia, nel cui fegato è stata rilevata una concentrazione particolarmente elevata di Cd, poiché l'uccello di palude si ciba di lombrichi, animali che accumulano il metallo, filtrando la terra .

#### **I.18.4 Contaminazione degli alimenti.**

Il cibo costituisce la principale fonte di Cd per i non fumatori. Studi recenti hanno quantizzato l'apporto medio giornaliero di Cd dal cibo. I risultati sono i seguenti: in Croazia 17.3 µg (108), nella Repubblica Ceca 11–19 µg (102), in Francia 27 µg (17, 18), in Germania 10–14 µg , in Polonia 23.3 µg (nelle donne) (77), in Spagna 11–29 µg (103) in Svezia 11–16 µg (16).

Gli esseri umani assorbono il Cd principalmente attraverso il cibo in quanto il tossico tende ad accumularsi nei vari alimenti più facilmente rispetto ad altri metalli.

Le piante assorbono con facilità la sostanza dal suolo attraverso l'apparato radicale per poi concentrarla nelle parti commestibili in quantità talvolta sufficienti a determinare fenomeni tossici nell'uomo.

L'accumulo del Cd negli organismi vegetali avviene anche attraverso il deposito del metallo sulle foglie, sui frutti e sui semi dopo essere stato trasportato dalle correnti atmosferiche.

L'entità del deposito sulla superficie delle piante varierà in base alle condizioni climatiche, alla densità delle particelle atmosferiche emesse dalle fonti inquinanti, dai venti e dalla dimensione delle foglie.

Si è visto che lavare accuratamente le foglie dei vegetali prima di consumarle aiuta a ridurre notevolmente la quantità di Cd ingerita e quindi a prevenire il suo accumulo.

Gli animali d'allevamento che si cibano di vegetali contaminati possono accumulare dosi consistenti di Cd, tuttavia la sensibilità verso tale sostanza varia molto a seconda della specie. Anche se in dosi variabili, avviene sempre un accumulo del tossico in alcuni organi di deposito, soprattutto fegato e rene, che poi vengono destinati all'alimentazione umana con i rischi sanitari che ne conseguono. Il cavallo risulta essere molto sensibile al Cd infatti, soprattutto nei soggetti meno giovani, si accumula nel fegato e nel muscolo a concentrazioni molto più alte rispetto alle altre specie.

Anche i bovini ed i caprini possono contenere (sempre nei reni e nel fegato) alte concentrazioni di Cd, ma al contrario la carne rossa di cui solitamente ci nutriamo, non è caratterizzata dalle stesse alte concentrazioni.

In ambiente marino l'assorbimento del metallo avviene ad opera del fitoplancton e della macrofite per poi passare ai molluschi ed ai crostacei. In questi ultimi il Cd si concentra notevolmente al contrario dei pesci dove, pur essendoci accumulo, la contaminazione non è paragonabile a quella degli invertebrati marini.

È noto che il Mar Mediterraneo è sottoposto ad una notevole pressione antropica che determina frequentemente inquinamento da metalli pesanti, tra cui il Cd, particolarmente alle foci dei fiumi, lungo le fasce costiere e in ambienti chiusi o semichiusi a ricambio ridotto. Negli organismi marini, i metalli pesanti incorporati da acqua di mare, materiale particellato e sedimento, vengono generalmente accumulati in maniera differenziata nei tessuti durante la crescita degli organismi stessi (bioaccumulo).

Tab. 1- Cadmio: limiti massimi negli alimenti. (mg/kg peso fresco)

Regolamento (CE) n. 629/2008 della Commissione  
del 2 luglio 2008

Carni (escluse le frattaglie) di bovini, ovini, suini e pollame	0.05
Carne di cavallo, escluse le frattaglie	0.20
Fegato di bovini, ovini, suini, pollame e cavallo	0.50
Reni di bovini, ovini, suini, pollame e cavallo	1.0
Muscolo di pesce dei seguenti pesci palamita ( <i>Sarda sarda</i> )sarago fasciato comune ( <i>Diplodus vulgaris</i> )anguilla ( <i>Anguilla anguilla</i> )cefalo ( <i>Chelon labrosus</i> )suro o sugarello ( <i>Trachurus species</i> )luvaro o pesce imperatore ( <i>Luvarus imperialis</i> )sgombro ( <i>Scomber species</i> )sardina ( <i>Sardina pilchardus</i> )sardine del genere <i>Sardinops</i> ( <i>Sardinops species</i> )tonno e tonnetto ( <i>Thunnus species</i> , <i>Euthynnus species</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i> )sogliola cuneata ( <i>Dicologlossa cuneata</i> )	0.10
Muscolo di pesce dei seguenti pesci: tombarello ( <i>Auxis species</i> )	0.20
Muscolo di pesce dei seguenti pesci: acciuga ( <i>Engraulis species</i> ), pesce spada ( <i>Xiphias gladius</i> )	0.30
Muscolo di pesce, escluse le specie elencate nei punti sopra	0.05
Crostacei, ad eccezione delle carni scure del granchio, della testa e del torace dell'aragosta e di grossi crostacei analoghi ( <i>Nephropidae</i> e <i>Palinuridae</i> )	0.5
Molluschi bivalvi	1.0
Cefalopodi (senza visceri)	1.0
Cere ali, esclusi crusca, germe, grano e riso	0.1
Crusca, germe, grano e riso	0.2
Semi di soia	0.2
Ortaggi e frutta, esclusi ortaggi a foglia, erbe aromatiche, funghi, ortaggi a stelo, ortaggi a radice e patate	0.05
Ortaggi a foglia, erbe aromatiche, sedano rapa e i seguenti funghi: <i>Agaricus bisporus</i> (prataioli), <i>Pleurotus ostreatus</i> (orecchioni), <i>Lentinula edodes</i> (Shiitake)	0.2
Funghi, esclusi quelli elencati nel punto	1.0
Integratori alimentari composti esclusivamente o principalmente da alghe marine essiccate o da prodotti derivati da alghe marine	3.0

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso  
Università degli Studi di Sassari

L'uomo assimila maggiori quantità Cd cibandosi di quegli alimenti, che per via della loro natura, presentano un rischio superiore di essere contaminati quali molluschi soprattutto cozze e ostriche, crostacei in particolare granchi, carne e fegato di cavallo, cereali, funghi, polvere di cacao ed alghe secche. Le alghe marine fissano naturalmente il Cd. Gli integratori alimentari composti esclusivamente o principalmente da alghe marine essiccate o da prodotti derivati da alghe marine possono di conseguenza presentare tenori di Cd più elevati di altri integratori alimentari. (vedi tabella)

### **I.18.5 Effetti di altri nutrienti sul Cd.**

#### **Zinco**

Gli effetti tossici del Cd vengono tenuti sotto controllo dallo Zn: quando nell'alimentazione vi è carenza di Zn, il corpo può reagire accumulando il Cd al suo posto. Se l'assunzione giornaliera di Zn è elevata, lo Zn sarà immagazzinato ed il Cd verrà invece espulso.

Nel grano intero il rapporto Cd-Zn è di 1 a 20 mentre si ritrova in alte concentrazione negli alimenti raffinati come la farina, il riso e lo zucchero.

#### **Rame**

Il Cd ostacola anche l'assorbimento del Cu, il quale, favorendo la ricalcificazione dell'osso, aiuta a migliorare i danno indotti dal Cd.



### **Calcio e vitamina D**

Un apporto adeguato di Ca e vitamina D può aiutare o revertire l'osteomalacia indotta dal Cd. Presumibilmente il Cd ostacola il metabolismo del Ca alterando il metabolismo della vitamina D nel rene.

### **Ferro**

Un adeguato apporto di Ferro protegge l'organismo dagli effetti tossici del Cd.

### **Selenio**

Il selenio inibisce i tumori testicolari ed i sarcomi indotti da Cd.

### **Manganese**

Il manganese introdotto con opportune quantità di Zn e Cu esercita un effetto protettivo contro la tossicità indotta da basse dosi di Cd.

### **Vitamina C**

Grandi quantità di vitamina C aiutano a prevenire i segni di avvelenamento da Cd.

### **Proteine**

Alcuni fonti alimentari di proteine sono più efficaci di altre nel proteggere l'organismo dagli effetti tossici del Cd: l'albume dell'uovo ha un effetto protettivo superiore della caseina, soia o gelatina, e ciò è dovuto probabilmente all'alta concentrazione di selenio presente in questo alimento. Un basso apporto proteico contribuisce quindi ad aumentare la tossicità del Cd.

L'apporto di Cd con la dieta ha una distribuzione logaritmica normale, quindi un piccolo aumento nell'apporto medio di Cd nella popolazione determina un notevole aumento nella frazione di popolazione che ha il più alto apporto del metallo.

Un aumento nell'apporto medio giornaliero di un fattore 2 (per esempio da 15 to 30  $\mu\text{g}/\text{die}$ ) corrisponderebbe ad un aumento nel 95° percentile da circa 20 a 60  $\mu\text{g}/\text{die}$  (60).

## **II. OBIETTIVI**

Obiettivo generale del presente lavoro è quello di studiare gli effetti tossici del Cd sull'uomo, in termini epidemiologici e clinico-sperimentali.

In particolare verrà valutata la concentrazione di Cd nel sangue (CCdS) di individui residenti in Sardegna correlando i dati ottenuti con l'abitudine al fumo e con l'assunzione di alimenti e nutrienti.

La finalità della ricerca è realizzare un database epidemiologico relativo alla popolazione in esame infatti i valori di riferimento delle CCdS rilevati nella popolazione sana, non esposta professionalmente, sono basilari per identificare i limiti di esposizione al metallo e quindi prevenire le malattie da accumulo di Cd o da carenza di elementi essenziali.

### **III MATERIALI E METODI**

#### **III.1 Soggetti ed area**

Lo studio è stato condotto nel distretto sanitario della provincia di Sassari un'area del Nord Sardegna con una superficie di 7.520 Km<sup>2</sup> che include 89 comuni.

Al censimento del 1991 la popolazione totale era di 454.904. Il flusso migratorio è moderato, prevalentemente da altre province isolate, e la composizione etnica dell'area in studio è stabile essendo composta in massima parte da nativi.

Sono stati reclutati 243 donatori, 157 femmine e 86 maschi, di età media 50 anni (SD 18.6) e sono stati sottoposti al prelievo ematico.

I prelievi sono stati effettuati presso alcuni centri ospedalieri dislocati nella provincia di Sassari ed Olbia-Tempio ed in particolare a Sassari, Ozieri, Thiesi, Tempio Pausania, Olbia, La Maddalena.

Ogni partecipante, dopo aver firmato il consenso informato, ha risposto ad un doppio questionario.

Nel primo questionario sono stati rilevati i seguenti dati:

1. dati personali: età, sesso, peso, altezza
2. possibili fattori di rischio: attività lavorativa, abitudini di vita, fumo, Alcool, hobby, zona di residenza, distanza da poli industriali, anamnesi familiare ed eventuali occasioni di contatto con il Cd.

Nel secondo questionario si è rivolta particolare attenzione all'acquisizione di dati inerenti la dieta attraverso domande molteplici del questionario EPIC

già ampiamente validato in altri studi (101) in merito al consumo medio di 164 nutrienti nel corso del precedente anno.

I dati sono stati letti automaticamente da uno scanner ottico ed immagazzinati in un database. Il software scelto appositamente per EPIC trasforma le informazioni sul consumo degli alimenti in apporto giornaliero di energia, macronutrienti e micronutrienti. I dati riguardanti i nutrienti per ogni alimento sono stati ottenuti dalla Food Composition Database for Epidemiological Studies in Italy. (107)

In questo studio l'esposizione al Cd è stata valutata attraverso alimenti quali frattaglie, crostacei, vegetali con radice, riso, uova, pesce, agrumi, altra frutta, olio di oliva, dolci, yogurt, pane e vino e nutrienti quali Ca, Zn, Fe, vitamina C e vitamina D.

I criteri di esclusione sono stati:

1. età inferiore ai 18 anni e senza altro limite di età
2. tutti i donatori con patologie neoplastiche o malattie che possano interferire con lo studio di concentrazione.

Di tutti i volontari, 61 sono risultati fumatori, 39 ex-fumatori e 143 erano non fumatori.

### **III.2 Trattamento ed analisi dei campioni.**

I campioni sono stati prelevati da tutti i soggetti usando un BD vacutainer contenente EDTA e con un ago in acciaio inossidabile. Una parte del campione (sangue intero) è stata conservata a  $-80^{\circ}$  C fino all'analisi e una parte (plasma), dopo la centrifugazione, è stato anch'esso conservato a  $-80^{\circ}$  fino all'analisi.

I campioni sono stati conservati in cryovials (Nunc da 1,8 ml) di polipropilene con tappo a vite di polipropilene dopo lavaggio in soluzione di acido nitrico.

La determinazione del Cd è stata eseguita mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico a fornetto di grafite corredato con un sistema di correzione del background con effetto Zeeman (GF-AAS Zeeman – Perkin Elmer mod. 5100 ZL).

Il procedimento analitico impiegato ha seguito il protocollo di analisi strumentale SPTF (Stabilized Platform Temperature Furnace) e prevede la determinazione diretta del Cd mediante l'uso del modificatore di matrice.

La soluzione del modificatore di matrice è stata preparata miscelando 2000 mg/l of  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  and 207mg/l di  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Cinque microlitri di questa soluzione sono stati aggiunti ad ogni aliquota nel fornetto di grafite.

I campioni da analizzare sono stati scongelati e mantenuti a temperatura ambiente per tutta la notte.

Aliquote da 100  $\mu\text{l}$  di ogni campione di sangue sono state aggiunte a 900  $\mu\text{l}$  di una soluzione acquosa contenente Triton X-100 0.01% e miscelate con cura. Le soluzioni sono state trasferite nelle vials dell'autocampionatore.

I campioni di sangue sono stati diluiti 1:10 con una soluzione acquosa di Triton X-100 (0.2%) e analizzati direttamente senza ulteriori trattamenti

Il metodo strumentale ha richiesto che 2 aliquote di campione (2x 10  $\mu\text{l}$ ) e 2 aliquote del modificatore di matrice (2x5  $\mu\text{l}$ ) fossero aggiunte al fornetto.

Dopo aver collocato ciascun campione è stato eseguito un ciclo di essiccaamento che ha permesso di aumentare la quantità di campione analizzata e migliorare il limite di rivelazione.

La concentrazione di Cd è stata determinata per interpolazione dell'area del picco di ciascun campione con la curva di calibrazione.

La calibrazione è stata realizzata con soluzioni acquose di Cd a concentrazioni di 0.0-0.2-0.04 e 0.08 ng/ml.

Le soluzioni di lavoro contenenti Triton X-100 0.01% sono state preparate giornalmente.

L'equazione di regressione aveva i seguenti parametri: slope,  $b=0.177\pm 0.005$ ; intercetta,  $a=-0.0002\pm 0.0002$ ; coefficiente di determinazione,  $r^2=0.998$ . La curva di calibrazione passava all'origine degli assi.

Il limite di rivelazione (LoD) 0.05  $\mu\text{g/l}$ , valutato con l'Upper Limit Approach (ULA2) correlato alla curva di calibrazione.

La ripetibilità del metodo è stata validata utilizzando 2 campioni di sangue con concentrazioni medie di Cd di 0.30 e 0.67  $\mu\text{g/l}$ . Per ogni campione sono state effettuate sei determinazioni; i coefficienti di variazione erano rispettivamente 17% e 12%.

L'accuratezza del metodo è stata controllata mediante l'utilizzo di campioni standard di riferimento certificato BCR 194 acquistati presso l'International Bureau of Reference, Brussels, Belgium con concentrazione di Cd certificata di 0.20  $\mu\text{g/l} \pm 0.05 \mu\text{g/l}$ . Il valore medio ottenuto con sei replicati è stato 0.25  $\mu\text{g/l}$  (SD, 0.01  $\mu\text{g/l}$ ).

Tutti i materiali usati per il trattamento, la conservazione e l'analisi dei campioni erano di ottima qualità e trattati con soluzione di acido nitrico per eliminare ogni possibile contaminazione da Cd.

E' stata utilizzata acqua deionizzata ed ulteriormente purificata con sistema Milli-Q (Millipore).

### **III.3 Analisi statistica**

L'analisi statistica per valutare la CCdS in relazione all'abitudine al fumo è stata eseguita utilizzando Stata 9® [45]. A causa della distribuzione asimmetrica dei dati è stata applicata una trasformazione logaritmica.

L'intervallo di confidenza (CI 95%) per la Media Geometrica (MG) è stato calcolato tenendo conto del grado di libertà della distribuzione t.

Le differenze tra i vari gruppi sono state testate utilizzando l'analisi della varianza.

E' stato applicato un modello di regressione lineare per studiare la dipendenza della Concentrazione di Cd nel Sangue (CCdS) su variabili esplicative.

Sono stati calcolati la mediana ed i percentili della CCdS ed è stato scelto un p-value <0.05 per indicare la significatività statistica.

I partecipanti sono stati raggruppati in categorie di età: <40 da 18 a 39 anni; 40-59 da 40 a 59 anni; >59 al di sopra di 59 anni.

L'analisi statistica per valutare la CCdS in relazione agli alimenti è stata eseguita utilizzando Stata 9® [45]. I risultati sono stati espressi come media e deviazione standard (DS). I valori per le media di età, peso ed altezza tra i due sessi sono stati testati con il test t di Student. I risultati sono stati riportati separatamente tra fumatori e non fumatori in quanto il fumo influenza notevolmente la CCdS. (75)

Il test non parametrico I-sample Wilcoxon è stato utilizzato per comparare i valori medi di CCdS tra sesso e abitudine al fumo nei due gruppi separati con basso indice di peso corporeo (Body Mass Index: BMI) inferiore a 18.6 ed alto BMI maggiore /uguale a 18.6.



Il test non parametrico è stato utilizzato per l'analisi dell'apporto giornaliero di Cd tra gruppi dicotomici per determinati alimenti e abitudine al fumo. Un  $p < 0.05$  e un  $p < 0.01$  sono stati considerati statisticamente significativi.

## IV RISULTATI

Il campione era composto da 86 maschi e 187 femmine con età compresa tra 18 e 90 anni.

Le caratteristiche dei partecipanti quali sesso, età abitudine al fumo, peso ed altezza sono mostrate nella tabella 2.

La media globale dell'età del campione era 49.9 anni. Il 58.8% erano fumatori di cui il 76.2% (n=109) erano femmine. I maschi sono significativamente più vecchi, più pesanti e più alti ( $p < 0.01$ ). Considerando i valori del BMI (Tab. 3), solo il 7.6% of femmine aveva BMI (valore medio: 17.9). Il valore di BMI era differente tra maschi e femmine nel gruppo dei non fumatori (rispettivamente 25.9 vs 24.3) e nel gruppo dei fumatori (rispettivamente 26.4 vs 22.5).

Sebbene non sia stata osservata una associazione tra BMI e Cd nel sangue ( $r_s = -0.04$ ,  $p > 0.05$ ) sono stati considerati i livelli di Cd nel sangue nel gruppo con alto BMI tra maschi e femmine e abitudine al fumo (Tab. 4).

Non sono state osservate differenze significative tra i livelli di Cd nel sangue nei maschi e nelle femmine non fumatori e fumatori ( $p > 0.05$ ).

Poiché la distribuzione degli elementi non ha una distribuzione normale, l'associazione tra questi è stata analizzata con il coefficiente di correlazione non parametrico dei ranghi di Spearman ( $r_s$ ) da cui è emersa una correlazione negativa fra Cd e Ca ( $r_s = -0.24$ ,  $p < 0.01$ ), Zn ( $r_s = -0.20$ ,  $p < 0.05$ ) e Vitamin D ( $r_s = -0.20$ ,  $p < 0.05$ ), e non significativa con il Fe ( $r_s = -0.10$ ,  $p > 0.05$ ). (Tab.5)

Analizzando la concentrazione di Cd introdotta con gli alimenti, (Tab 6) non sono emerse differenze statisticamente significative, fatta eccezione per le

frattaglie, dove è emersa una significativa differenza tra il valore medio di CCdS tra i consumatori di tale alimento e i non consumatori ( $p=0.02$ ).

Tabella 2 Caratteristiche del campione

Caratteristiche	Maschi		Femmine		p-value	Totale	
	n	media (sd)	n	media (sd)		n	media (sd)
Numero di partecipanti	86		157			243	
Non fumatori	34		109			143	
Fumatori	52		48			100	
Età (anni)		54.2 (18.2)		47.5 (18.5)	0.0068		49.9 (18.7)
Peso (kg)		75.8 (11.8)		61.6 (12.9)	0.00001		66.7 (14.2)
Altezza (cm)		170.2 (7.0)		161.3 (6.2)	0.00001		164.5 (7.8)

Tabella 3. Valori descrittivi del BMI

Caratteristiche	Maschi		Femmine		p-value	Totale	
	n	media (sd)	n	media (sd)		n	media (sd)
BMI	86	26.2 (3.9)	157	23.7 (4.8)	0.00001	243	24.6 (4.6)
BMI (non fumatori)	34	25.9 (4.7)	109	24.3 (4.8)	0.047	143	24.7 (4.8)
BMI (fumatori)	52	26.4 (3.2)	48	22.5 (4.5)	0.00001	100	24.5 (4.3)
Basso BMI (<18.6)	0	-	12	17.9 (0.5)	-	12	17.9 (0.5)
Alto BMI ( $\geq 18.6$ )	86	26.2 (3.9)	145	24.2 (4.6)	0.00001	231	24.9 (4.5)

Tabella 4. Valori medi di CCdS ( $\mu\text{g/l}$ ) tra sesso e abitudine al fumo, su BMI

	Non fumatori		Fumatori		p-value	Totale	
	n	media (sd)	n	media (sd)		n	media (sd)
Basso BMI (<18.6)	5	0.35 (0.3)	7	0.57 (0.2)	0.08	12	0.48 (0.3)
Maschi	0	-	0	-	-	0	-
Femmine	5	0.35 (0.3)	7	0.57 (0.2)	0.08	12	0.48 (0.3)
Alto BMI ( $\geq 18.6$ )	138	0.29 (0.1)	93	0.45 (0.2)	0.00001	231	0.36 (0.2)
Maschi	34	0.26 (0.1)	52	0.45 (0.2)	0.00001	86	0.37 (0.2)
Femmine	104	0.31 (0.1)	41	0.45 (0.2)	0.00001	145	0.35 (0.2)
p-value		0.19		0.76			0.40

Tabella 5. Coefficienti di correlazione tra CCdS ( $\mu\text{g/l}$ ) ed elementi nell'abitudine al fumo

		Non fumatori	Fumatori
Parametri correlati		$r_s$	$r_s$
Cadmio -	Calcio	-0.24**	0.15
	Zinco	-0.20*	0.11
	Ferro	-0.10	0.05
	Vitamina C	0.0002	0.11
	Vitamina D	-0.20*	0.16

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

Tabella 6 Concentrazioni medie ( $\mu\text{g/l}$ ) nel gruppo di alimenti selezionati, tra non fumatori e fumatori.

Gruppi di alimenti	Non fumatori		Fumatori		P	Totale		P	
	n	media (sd)	n	media (sd)		n	media (sd)		
Fratraglie									
	si	81	0.31 (0.14)	71	0.46 (0.19)	0.00001	152	0.38 (0.18)	0.02
	no	62	0.29 (0.13)	29	0.46 (0.25)	0.0001	91	0.34 (0.19)	
Crostacei	/								
Molluschi									
	si	112	0.29 (0.13)	81	0.46 (0.22)	0.00001	193	0.36 (0.19)	p>0.05
	no	31	0.32 (0.17)	19	0.44 (0.17)	0.006	50	0.37 (0.18)	
Vegetali con radice									
	si	125	0.29 (0.13)	79	0.45 (0.19)	0.00001	204	0.36 (0.17)	p>0.05
	no	18	0.29 (0.18)	21	0.49 (0.27)	0.005	39	0.40 (0.25)	
Riso									
	si	125	0.30 (0.14)	83	0.47 (0.22)	0.00001	208	0.37 (0.19)	p>0.05
	no	18	0.27 (0.11)	17	0.42 (0.18)	0.008	35	0.34 (0.16)	
Uova									
	si	137	0.29 (0.14)	97	0.46 (0.21)	0.00001	234	0.36 (0.19)	p>0.05
	no	6	0.35 (0.13)	3	0.47 (0.29)	0.60	9	0.39 (0.19)	
Pesce									
	si	134	0.30 (0.14)	96	0.46 (0.21)	0.00001	230	0.37 (0.19)	p>0.05
	no	9	0.23 (0.09)	4	0.43 (0.23)	0.16	13	0.29 (0.16)	
Agrumi									
	si	140	0.30 (0.14)	93	0.46 (0.21)	0.00001	233	0.36 (0.19)	p>0.05
	no	3	0.30 (0.05)	7	0.48 (0.12)	0.02	10	0.42 (0.17)	
Altri frutti									
	si	142	0.30 (0.149)	99	0.46 (0.21)	0.00001	241	0.36 (0.19)	p>0.05
	no	1	0.28	1	0.35	0.32	2	0.32 (0.05)	
Latte									
	si	91	0.30 (0.13)	61	0.43 (0.19)	0.00001	152	0.35 (0.17)	p>0.05
	no	52	0.29 (0.14)	39	0.49 (0.23)	0.00001	91	0.38 (0.21)	
Olio d'oliva									
	si	142	0.30 (0.14)	99	0.46 (0.21)	0.00001	241	0.36 (0.19)	p>0.05
	no	1	0.18	1	0.68	0.32	2	0.43 (0.35)	
Dolci									
	si	105	0.29 (0.13)	69	0.47 (0.21)	0.00001	174	0.36 (0.18)	p>0.05
	no	38	0.31 (0.15)	31	0.42 (0.22)	0.017	69	0.36 (0.19)	
Yogurt									

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

	si	107	0.29 (0.12)	67	0.45 (0.19)	0.00001	174	0.35 (0.17)	p>0.05
	no	36	0.34 (0.18)	33	0.48 (0.25)	0.003	69	0.41 (0.23)	
Pane									
	si	137	0.30 (0.14)	100	0.46 (0.21)	0.00001	237	0.37 (0.19)	p>0.05
	no	6	0.27 (0.09)	0	-	-	6	0.27 (0.09)	
Vino									
	si	73	0.29 (0.14)	66	0.46 (0.20)	0.00001	139	0.37 (0.19)	p>0.05
	no	70	0.31 (0.14)	34	0.44 (0.22)	0.0005	104	0.35 (0.18)	

Per quanto riguarda lo studio della CCdS in relazione all'abitudine al fumo la distribuzione dei dati è risultata asimmetrica (Fisher's  $\gamma$  1: 1.51) ed è stata necessaria la trasformazione logaritmica per renderla simmetrica (Fisher's  $\gamma$  1: 0.15). La CCdS è risultata compresa tra 0.10  $\mu\text{g/l}$  e 1.2  $\mu\text{g/l}$ .

La tabella 7 riporta la distribuzione della CCdS in base all'abitudine al fumo; 173 soggetti erano non fumatori (58.8%), 39 erano ex-fumatori (16.1%) e 61 erano fumatori (25.1%). La media geometrica globale (GM) della CCdS era 0.32  $\mu\text{g/l}$  (CI95%: 0.31-0.34  $\mu\text{g/l}$ ) ed era significativamente ( $p<0.0001$ ) compresa tra 0.27  $\mu\text{g/l}$  (CI95%: 0.26-0.29  $\mu\text{g/l}$ ) nei non fumatori a 0.34  $\mu\text{g/l}$  (CI95%: 0.30-0.39  $\mu\text{g/l}$ ) negli ex-fumatori fino a 0.47  $\mu\text{g/l}$  (CI95%: 0.42-0.53  $\mu\text{g/l}$ ) nei fumatori. Sfruttando l'efficienza della trasformazione logaritmica i valori della mediana della CCdS nell'intero campione (0.31 $\mu\text{g/l}$ ) e nei tre specifici sottogruppi (rispettivamente 0.27, 0.33, 0.50 $\mu\text{g/l}$ ) sono risultati simili ai valori di GM. L'andamento in aumento evidenziato nei valori di media e mediana della CCdS nelle tre categorie di non fumatori, ex-fumatori e fumatori è stato osservato anche nei valori percentile.

Non sono state evidenziate significative differenze fra i due sessi nei valori medi della CCdS (maschi: GM=0,33 $\mu\text{g/l}$ ; CI 95%: 0,29-0,36; femmine:

GM=0,32  $\mu\text{g/l}$ ; CI 95%: 0,30-0,34), anche se sono risultati valori leggermente più alti nelle femmine non fumatrici ed ex-fumatrici (Tab. 8).

Inoltre l'andamento in aumento nelle tre categorie è stato osservato in entrambi i sessi ( $p<0.0001$ ).

Nel complesso non sono state evidenziate differenze nella media della CCdS tra categorie di età (Tab. 9). Va detto comunque che quando i dati sono stati stratificati per età emergono differenze significative nei non fumatori ( $p<0.05$ ).

In questa categoria la CCdS è risultata dipendere dall'età (regressione lineare dei valori logaritmici: intercetta = -1,60, coeff.  $b= 0,0061$ ;  $p<0,001$ ) come riportato nella tabella 10. Inoltre sono state osservate significative differenze ( $p<0.0001$ ) nei valori medi di età tra le tre categorie riguardanti l'abitudine al fumo (Tab. 11), in quanto risulta che gli ex-fumatori siano il gruppo più vecchio ( $59.5\pm 16.2$ ) ed i fumatori il più giovane ( $43.4\pm 13.8$ ).

La tabella 12 riporta la distribuzione dei valori medi della CCdS nei fumatori in base al numero di sigarette al giorno. Come ci si aspettava è stato osservato un aumento nei valori medi di CCdS tra i fumatori che va da 0.44  $\mu\text{g/l}$  nei deboli fumatori (CI95%: 0.38-0.49  $\mu\text{g/l}$ ) a 0.48  $\mu\text{g/l}$  nei fumatori moderati (CI95%: 0.40-0.57  $\mu\text{g/l}$ ) fino a 0.64 $\mu\text{g/l}$  nei forti fumatori (CI95%: 0.50-0.80  $\mu\text{g/l}$ ), sebbene queste differenze non sono risultate significative del piccolo numero di appartenenti all'ultima categoria ( $p=0.16$ ).

Tabella 7. CCdS ( $\mu\text{g/l}$ ) in relazione all'abitudine al fumo.

<i>Abitudine al fumo</i>	N	MG*	95% MG-IC		Mediana	p5	p25	p75	p95
			inferiore	superiore					
Non fumatori	143	0.27	0.26	0.29	0.27	0.13	0.21	0.36	0.53
Ex-fumatori	39	0.34	0.30	0.39	0.33	0.20	0.26	0.42	0.61
Fumatori	61	0.47	0.42	0.53	0.50	0.21	0.38	0.61	0.86
Totale	243	0.32	0.31	0.34	0.31	0.15	0.24	0.45	0.74

Note:

N= numero di soggetti; MG= Media Geometrica; 95% MG-IC= Intervallo di Confidenza per la MG; p5, p25, p75, p95= percentili;

\*= parametri significativi : analisi della varianza  $p < 0.0001$



Tabella 8. CCdS ( $\mu\text{g/l}$ ) in relazione al sesso e all'abitudine al fumo.

<i>Abitudine al fumo</i>	MASCHI				FEMMINE				p
	N	MG*	95% MG-IC		N	MG*	95% MG-IC		
			inf	sup			inf	sup	
Non fumatori	34	0.25	0.22	0.28	109	0.28	0.26	0.31	NS
Ex-fumatori	22	0.32	0.27	0.39	17	0.36	0.30	0.43	NS
Fumatori	30	0.47	0.41	0.55	31	0.44	0.35	0.55	NS
Totale	86	0.33	0.29	0.36	157	0.32	0.30	0.34	NS

Note:

N= numero di soggetti; MG= Media Geometrica; 95% MG-IC= Intervallo di Confidenza per la MG; NS= Non Significativa:  $p>0.05$

\*= parametri significativi: analisi della varianza  $p<0.0001$

Tabella 9. CCdS ( $\mu\text{g/l}$ ) in relazione all'età e all'abitudine al fumo

Età	Non fumatori				Ex fumatori				Fumatori				Totale			
	N	MG	95% IC		N	GM	95% IC		N	GM	95% IC		N	GM	95% IC	
			I	S			I	S			I	S			I	S
<40	50	0.23	0.09	0.58	5	0.35	0.21	0.58	27	0.43	0.15	1.38	82	0.30	0.10	0.92
40-59	39	0.28	0.13	0.68	16	0.31	0.11	0.88	26	0.40	0.26	0.87	81	0.32	0.14	0.84
>59	54	0.29	0.13	0.67	18	0.33	0.17	0.77	8	0.51	0.19	1.34	80	0.31	0.15	0.72
Tot	143				39				61				243			
P		<0.05				NS				NS				NS		

Notes:

N= numero di soggetti; MG= Media Geometrica; 95% IC= Intervallo di confidenza per la MG: I=Inferiore, S=Superiore; NS= Non Significativo:  $p>0.05$

Tabella 10. Modello di regressione con trasformazione logaritmica della CCdS nei non fumatori.

Variabile	Coeff.	Err. Std.	Valore t	Valore p	Intervallo di confidenza 95%	
					inferiore	superiore
Età	0.0061	0.0017	3.60	0.000	0.0027	0.0094
Costante	-1.6011	0.0910	-17.60	0.000	-1.7810	-1.4214

*Model R-squared=0.08*

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

Tabella 11. Et  in rapporto all'abitudine al fumo

<i>Abitudine al fumo</i>	al N	Et�*	
		media	dev. st.
Non fumatori	143	50,0	20,0
Ex-fumatori	39	59,5	16,2
Fumatori	61	43,4	13,8
Totale	243	49,9	18,7

\*= parametri significativi: analisi della varianza  $p < 0.0001$

Tabella 12. Distribuzione della CCdS nei fumatori, classificati in base al numero di sigarette al giorno

Categorie di fumatori	di	n. sigarette/die	N	MG	Intervallo di confidenza 95%	
					inferiore	superiore
Debole,	1-10	24	0,44	0,38	0,49	
Moderato,	11-20	31	0,48	0,40	0,57	
Forte,	>20	6	0,64	0,50	0,80	
Totale		61				

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Universit  degli Studi di Sassari

## V DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il valore della MG totale ottenuta dall'analisi della CCdS nella popolazione adulta residente nel Nord Sardegna e non esposta professionalmente al Cd corrisponde a 0.32  $\mu\text{g/l}$ , compreso tra un minimo di 0.10  $\mu\text{g/l}$  ed un massimo di 1.20  $\mu\text{g/l}$ .

Il dato evidenzia che la CCDS è più bassa rispetto ad altre regioni italiane (3, 32) dove il valore è compreso tra 0.5  $\mu\text{g/l}$  e 0.7  $\mu\text{g/l}$ .

Sono stati rilevati valori ancora più alti in alcune regioni europee (11, 14, 84, 102) ed in Asia, in particolare in Giappone. (130, 136)

Sono stati evidenziati invece valori simili in altre nazioni e città dell'Europa (36, 42) e dell'Asia, come ad esempio Singapore dove il valore oscilla tra 0.21 $\mu\text{g/l}$  a 0.49  $\mu\text{g/l}$ . (28)

La BCdC dipende dall'abitudine al fumo in quanto i livelli aumentano progressivamente nelle tre categorie considerate dei non fumatori (0.27  $\mu\text{g/l}$ ), ex-fumatori (0.34  $\mu\text{g/l}$ ) e fumatori (0.47  $\mu\text{g/l}$ ) nei quali addirittura raddoppiano rispetto ai non fumatori, nonché nei tre gruppi dei deboli (0.44 $\mu\text{g/l}$ ), moderati (0.48  $\mu\text{g/l}$ ) e forti fumatori (0.64 $\mu\text{g/l}$ ).

La stretta dipendenza con il fumo è emersa anche analizzando la CCds nei gruppi di alimenti considerati in questo studio dove è evidente il contributo del tabacco (Tab. 5).

Questi risultati enfatizzano il ruolo delle sigarette nel determinare un aumento della CCdS così come riportato in altri lavori (11, 32, 37, 48, 67) e rimarcano che l'abitudine al fumo di sigaretta e la dieta sono le più importanti fonti ambientali di assorbimento del metallo nella popolazione non esposta professionalmente.

Svariati studi riportano dati simili (32) alcuni invece evidenziano dati non concordanti. Per esempio in uno studio condotto in Singapore è stata analizzata la CCdS in tre gruppi etnici ed è risultato che nel gruppo cinese I non fumatori avevano concentrazioni maggiori dei deboli e forti fumatori e rispettivamente 0.15 µg/l, 0.10µg/l and 0.10 µg/l. (28)

Inoltre in questo studio i fumatori sono risultati significativamente più giovani degli appartenenti alle altre categorie a causa di una distribuzione non omogenea dei dati per età ed abitudine al fumo ed inoltre l'effetto cumulativo del Cd potrebbe aver interferito con il dato oggettivo.

Va detto però che la popolazione sarda inizia a fumare precocemente. (76, 78)

E' emerso quindi che la CCdS dipende dall'età nei non fumatori ( regressione lineare:  $p < 0,001$ ) ma non nelle categorie di ex fumatori e fumatori nei quali l'effetto delle sigarette nasconde quello dell'età.

Il genere sembra non influenzare la CCdS; nei maschi la concentrazione è 0.33µg/l e nelle femmine 0.32 µg/l: Questo dato è riportato anche in altri studi (14, 84), anche se la MG della CCdS è risultata moderatamente e non significativamente più alta nelle donne non fumatrici e fumatrici, come già descritto in Svezia.

D'altra parte in Marocco è stato riportato che la CCdS complessiva nei maschi era del 30% più alta di quella delle femmine (67) e risultati simili sono stati evidenziati nel Nord Italia. (3) Nel complesso, anche se in vari lavori è stato riportato che il genere potrebbe influenzare la mortalità per esposizione al Cd (126), noi crediamo invece che non sia determinante e che i dati discrepanti possano dipendere da errori.

Per quanto riguarda la CCdS in relazione al BMI tra fumatori e non fumatori non sono state evidenziate differenze significative. I fumatori di entrambi i

sessi comunque mostrano CCdS superiori ai non fumatori sia nel gruppo con BMI <18.6 che nel gruppo con BMI ≥18.6; tale aumento inoltre è più marcato nelle donne con BMI <18.6. Questo dato è in accordo con quanto riportato in letteratura. (86) Alcune ricerche sugli animali hanno evidenziato che la malnutrizione da carenza proteica può aumentare l'assorbimento di Cd.

La correlazione negativa tra CCdS e Ca, Zn e vitamine D è in accordo con quanto riportato in letteratura.

E' noto da tempo che lo Zn è un'antagonista del Cd.

Molti degli effetti tossici del Cd comprese le malattie renali, danni neurologici, arteriosclerosi e difetti di nascita derivano dalla sostituzione di Zn nei siti di legame sensibili di svariati enzimi. La Mt lega lo Zn, il Cu ed il Cd, ma poiché il legame con quest'ultimo è più forte, un eccesso di Cd causa un deficit di Zn e Cu. Da un punto di vista chimico e metabolico il Cd presenta una stretta affinità con lo Zn e molti sintomi di tossicità da Cd sono simili a quelli da carenza di Zn. (23)

Gli effetti tossici del Cd vengono quindi tenuti sotto controllo dallo Zn: quando nell'alimentazione vi è carenza di Zn, il corpo può reagire accumulando il Cd al suo posto. Se l'assunzione giornaliera di Zn è elevata, lo Zn sarà immagazzinato ed il Cd verrà invece espulso. (74, 99)

Il Cd depositato nei reni genera un disequilibrio tra Ca e P in quanto probabilmente altera il metabolismo della vitamina D. Una perturbazione nel rapporto Ca/P può portare a osteoporosi, osteomalacia e fratture.

Il Cd ha un potente effetto inibitorio sull'incorporazione di Ca, anche quando vie è un adeguato apporto di Ca. Ciò può essere dovuto a inibizione dell' 1,25 diidrossicalciferolo delle cellule dei tubuli renali. (30, 74, 99)

Nei gruppi di alimenti considerati in questo studio la CCdS è risultata statisticamente significativa solo nelle frattaglie.

Come precedentemente esposto il fegato ed il rene accumulano la maggior parte del Cd introdotto nell'organismo sia dell'uomo che degli animali, quindi il consumo di interiora determina un aumento considerevole della CCdS.

Ovviamente ciò dipende anche dalla quantità di alimento introdotto e dalla frequenza.

In Sardegna il consumo di frattaglie è piuttosto elevato ed in certe zone dell'interno l'utilizzo di interiora nella preparazione culinarie è parte integrante della tradizione e della cultura sarda.

Nel complesso i valori di CCdS nel sangue dei soggetti del Nord Sardegna in relazione al fumo sono risultati più bassi rispetto a molte altre zone d'Italia e del mondo.

La CCdS in relazione ai gruppi di alimenti considerati non ha evidenziato valori statisticamente significativi, fatta eccezione per le frattaglie.

Questi valori possono essere spiegati in parte con i bassi livelli di inquinamento ambientale dell'area ed in parte con le peculiari caratteristiche della popolazione sarda.

La Sardegna rappresenta infatti un valido esempio di studio in quanto è eterogenea sotto il profilo territoriale, con zone rurali ed industriali, ma omogenea e peculiare per gli aspetti genetici.

La presenza di possibili correlazioni ed interazioni genético-ambientale possono essere meglio valutate in un contesto come quello sardo dove è risaputo che alcune malattie hanno un'incidenza diversa da quella di altre zone d'Italia e d'Europa, come per esempio la sclerosi multipla.

La messa a punto di un database della regione può essere estremamente utile, poichè si tratta di un territorio relativamente poco esteso ma che presenta caratteristiche peculiari sufficienti per uno studio completo.

I valori di riferimento delle CCdS e di altri elementi rilevati nella popolazione sana, non esposta professionalmente, fungono da base nello studio dell'identificazione dei limiti di esposizione, fondamentale per la prevenzione di malattie causate da elementi tossici o da carenza di elementi essenziali.



## VI BIBLIOGRAFIA

1. A.A.V.V. :Review of environmental contamination an toxicology. Vol 154Springer, New York. USA, 1998
2. Achanzar W., B. A. Diwan, J. L. Salmann, M. P. Waalkes: "Cadmium induced malignant transformation of human prostate cells". Cancer Research, 61, 554 - 558, 2001.
3. Alessio L, Apostoli P, Braga M, Duca PG, Herber RFM, Nordberg G, Versterberger O. Estimation of pooled reference values for cadmium in blood using meta-analysis and TRACY criteria. Sci Total Environ 1994; 152: 169-177.
4. Arena N., E. E. Alia, M. P. Demontis, M. C. Fattaccio, R. Madeddu, L. Deiana: "Metodica alternativa per il monitoraggio ambientale dell'assunzione di metalli pesanti in sistemi biologici animale e vegetali". Bioch. Clin. Suppl. 3/12, Vol. 17, 16 – 17, 1993.
5. Azara A. et al., "Monitoraggio di metalli pesanti nelle acque costiere della Sardegna settentrionale mediante utilizzo di indicatori biologici", Univ. Degli Studi di Sassari II Conf. Nazionale, Sassari, maggio 2002.
6. Bagchi D. et al., "Cadmium induced excretion of urinary lippid metabolites, DNA damage, glutathione depletion and hepatic lippid peroxidation in Sprague-dawley rats", Biol. Trace Elem. Res., 52(2): 143-54, 1996.

7. Bårany E, Bergdahl IA, Bratteby L-E, Lundh T, Samuelson G, Schütz, S, Skerfving and A. Oskarsson, Trace elements in blood and serum of Swedish adolescents relation to gender, age, residential area, and socioeconomic status, *Environ. Res* 2002;. 89: 72–84
8. Barany E., Bergdahl IA., Bratteby LE., Lundh T., Samuelson G., Skerfving S., Oskarsson A.: "Iron status influences trace element level in human blood and serum". *Environ. Res.* 98(2) 215-23 Jun 2005
9. Bårany E., I. A. Bergdahl, L. E. Bratteby, T. Lundh, G. Samuelson, A. Schütz, S. Skerfving and A. Oskarsson: "Trace elements levels and correlations in whole blood and serum from Swedish adolescent". *Sci. Tot. Environ*, 286, 129 - 141, 2002.
10. Barbier, O; Jacquillet, G; Tauc, M; Cougnon, M; Poujeol, P. Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. *Nephron Physiol.* 2005;99:p105–10.
11. Becker K, Kaus S, Krause C, Lepom P, Schulz C, Seiwert M, et al. German environmental survey (GerES III): environmental pollutants in blood of the german population. *Int J Hyg Environ Health* 2002; 205: 297-308.
12. Bencko V., I. V. L. Cikt, J. Lener: "Toxic Metal in the living and working environment". Grada/Avicenum, Praha, 1995.
13. Benedetti JL, Dewailly E, Turcotte F, Lefebvre M. Unusually high blood cadmium associated with cigarette smoking among three subgroups of the general population. *Sci Total Environ* 1994; 152: 161-167.

14. Benes C, Spevackova V, Smid J, Cejchanova M, Cerna M, Subrt P, et al. The concentrations levels of Cd, Pb, Hg, Cu and Se in blood of the population in the Czech republic. *Cent Eur J Publ Health* 2000; 8: 117-119.
15. Benes S., Spevackova V., Smid J., Cerna M., Marecek J.: "The concentration levels of Cd, Pb, Hg, Cu, Zn and Se in blood of the population in relation to the Czech Republic". *Cent. Eur. J. Publ. Health* 8, 2000, No. 2, 117 - 119.
16. Berglund M, Akesson A, Nermell B, Vahter M. Related Articles Intestinal absorption of dietary cadmium in women depends on body iron stores and fiber intake. *Environ Health Perspect.* 1994 Dec;102(12):1058-66. Bernard A.: "Renal dysfunction induced by Cadmium:biomarkers of critical effects". *Biometals* 17(5) 519-3 Oct 2004
17. Biego GH, Joyeux M, Hartemann P, Debry G. Daily intake of essential minerals and metallic micropollutants from foods in France. *Sci Total Environ.* 1998 Jun 30;217(1-2):27-36.
18. Biego GH, Joyeux M, Hartemann P, Debry G. Determination of mineral contents in different kinds of milk and estimation of dietary intake in infants. *Food Addit Contam.* 1998 Oct;15(7):775-81.
19. Boadi WY, Yannai S, Urbach J, Brandes JM, Summer RH. Transfer and accumulation of cadmium and the level of metallothionein in perfused human placentae. *Arch Toxicol* 1991;65:318-23.

20. Breen J. G. et al., «Cellular adaptation to chronic cadmium exposure: intracellular localization of metallothionein protein in human trophoblast cells», *Teratology*, 51(4): 266 – 72, 1995.
21. Brozoka M.M., J. Moniuszko-Jakoniuk: "Interaction between cadmium and zinc in organism". *Food and Clin. Tox.* 39 10, 967 - 980, 2001.
22. Bush P.G., T. M. Mayhew, D. R. Abramovich, P. J. Agget, M. D. Burke, K. R. Page: "A quantitative study on the effects of maternal smoking on placental morphology and cadmium concentration". *Placenta*, 21(2-3), 247 - 256, 2000.
23. C G Elinder and M Piscator. Cadmium and zinc relationships. *Environ Health Perspect.* 1978 August; 25: 129–132
24. Carnevali O, Scarponi G. Bioaccumulo di cadmio nel teleosteo marino *Gobius Niger* rilevato mediante voltammetria di ridissoluzione anodica
25. Carrol RE. The relationship of cadmium in the air to cardiovascular disease death rates. *JAMA* 1966;198:177-82.
26. Cerna M., et al.: "Population based monitoring in the Czech Republic - the system and selected results". *Sci. Total Environ*, 204, 263 - 270, 1997
27. Cerny EA., Bhattacharyya MIL.: "Low-volume high-sensitivity assay for cadmium in blood and urine using conventional atomic absorption spectrophotometry". *Anal. Biochem* 314 (2) 180-93 Mar 15 2003
28. Chia SE, Chan OY, Sam CT, Heng BH. Blood cadmium levels in non-occupationally exposed adult subjects in Singapore. *Sci Total Environ* 1994;. 145 (1-2): 119-23.

Autore: Paola Tolu

Titolo della tesi: Effetti del Cadmio sull'uomo

Tesi di Dottorato in: Fisiologia, morfologia, farmacologia e fisiopatologia del sistema nervoso

Università degli Studi di Sassari

29. Cornelis R., E. Sabbioni, M. T. Van der Venne: "Trace elements reference values in tissues from inhabitants of European Community". *Sci. Total Environ.* 158, 191 - 196, 1994.
30. Corradino RA. Cadmium inhibition of vitamin D-mediated responses in organ-cultured embryonic chick duodenum *Toxicology and Applied Pharmacology* Volume 48, Issue 2, April 1979, Pages 257-261.
31. Coyle YM.:” The effect of environment on breast cancer risk”. *Breast Cancer Res. Treat.* 84(3) 273-88 Apr. 2004
32. Dell’Omo M, Muzi G, Piccinini R, Gambelunghe A, Morucci P, Fiordi T, et al. Blood cadmium concentrations in the general population of Umbria, Central Italy. *Sci Total Environ* 1999; 226: 57-64.
33. Dohi Y., et al., “Effect of cadmium on osteogenesis within diffusion chambers by bone marrow cells: biochemical evidence of decreased bone formation capacity”, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 120(2): 274 – 80, 1993.
34. Elisma F, Jumarie C. Evidence for cadmium uptake through Nramp2: metal speciation studies with Caco-2 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Jul 20;285(3):662-8.
35. Ellis KJ, Cohn SH, Smith TS. Cadmium inhalation exposure estimates: their significance with respect to kidney and liver cadmium burden. *J Toxicol Environ Health* 1985;15:173-8.
36. Erzen I, Zaletel Krageli L. Exposure assessment of male recruits in Slovenia to cadmium and lead due to biological monitoring. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2004; 14: 3855-90.

37. Ewers U, Brockhaus A, Dolgner R., Freier I, Turfeld M, Engelke R, et al. Blood lead and blood cadmium concentration in 55-66-year-old women from different areas of Nordrhein-Westfalen-chronological trends during 1982-1988. *Zentralbl Lyg Umweltmed* 1990; 189 (5): 405-18.
38. Felley-Bosco E, Diezi J. Dietary calcium restriction enhances cadmium-induced metallothionein synthesis in rats. *Toxicol Lett.* 1992 Apr;60(2):139-44.
39. Fernandez MA, Sanz P, Palomar M, Serra J, Gadea E. Fatal chemical pneumonitis due to cadmium fumes. *Occup Med (Lond)* 1996;46:372-4.
40. Fisher AB., Georgieva R., Nikolova V., Halkova J., Bainova V., Hristeva V., Penkov D., Alandjisk D.: " Health risk for children from lead and cadmium near a non-ferrous smelter in Bulgaria". *Int. J. Hyg. Environ Health* 206 (1) 25-38 Jan 2003
41. Frery N., C. Nessmann, F. Girard, J. Lafond, T. Moreau, P. Blot, J. Lellouch, G. Huel: "Environmental exposure to cadmium and human birthweight". *Toxicology*, 79(2), 109 - 180, 1993.
42. Friberg L, Vahter A. Assessment of exposure to lead cadmium through biological monitoring: result of a UNEP/WHO global study. *Environ Res* 1983; 30: 95-128.
43. Friberg L., et al., "Cadmium in the environment", C.R.C. Press., 1971.
44. Friberg L., et al., "Cadmium in the environment", II Ed. C.R.C. Press., 1974
45. Friberg L., et al., "Handbook on the toxicology of metals", Elsevier, 1979.

46. Gachot B., P. Poujeol: "Effects of cadmium and copper on zinc transport kinetics by isolated renal proximal cells". *Biol. Trace Elem. Res.* 35(2), 93 – 103, 1992.
47. Goering P.L: WMKC: "Toxicology of cadmium". *Toxicology of metal*, 189 – 217, 1995.
48. Gokmen IG, El-Agha O. Smoking habits and cadmium intake in turkey. *Biol. Trace Element Res* 2002; 88 (1): 31-44.
49. Goyer, RA; Liu, J; Waalkes, MP. Cadmium and cancer of prostate and testis. *Biometals.* 2004;17:555–558.
50. Groneberg, DA; Kraus, T; Fischer, A. Chronic cough: tobacco smoke, particulate matter, ozone, nitrogen oxides and other environmental factors. *J Occup Med Toxicol.* 2005;1
51. Groneberg, DA; Nowak, D; Wussow, A; Fischer, A. Chronic cough due to occupational factors. *J Occup Med Toxicol* 2005;1
52. Gunn S. A., et al., "Cadmium induced interstitial cell tumours in rats and mice and their prevention by zinc", *J. Nat. Cancer. Inst.*, 31, 745, 1973.
53. Haga A., H. Nagase, H. Hito, T. Sato: "Enhanced invasiveness of tumours cells after host exposure to heavy metals". *Eur. J. Of Cancer* 324, 2342 - 2347, 1996.
54. Hagman U., A'. Bruce, L. E. Persson, G. Samuelson and S. Sjölin: "Food habits and nutrient intake in childhood in relation to health and socio-economics conditions". *Acta Paediatr. Scan.*, 75, 1 - 56, 1986.
55. Horigacki H., Oguma E., Sasaki S., Miyamoto K., Ikeda Y., Machida M., Kayama F.:" Dietary exposure to cadmium at close to the current provisional tolerable weekly intake does not affect

- renal function among female Japanese farmers”. *Environ. Res.* 95(1) 20-31 May 2004
56. IARC, International agency for research on cancer, Vol. 2 Francia, 1986.
57. Il'yasova D, SGG. Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;207:179–186.
58. Jarup L, Alfven T, Persson B, Toss G, Elinder CG. Cadmium may be a risk factor for osteoporosis. *Occup Environ Med* 1998;55:435-9.
59. Järup L, Bellander T, Hogstedt C, Spång G. Mortality and cancer incidence in Swedish battery workers exposed to cadmium and nickel *Occup Environ Med.* 1998 Nov;55(11):755-9.
60. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure--a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health.* 1998;24 Suppl 1:1-51
61. Jarup L., Alfven T.:” Low level Cadmium exposure, renal and bone effects – the Oscar study”. *Biometals* 17(5) 505-9 Oct 2004
62. Jarup L.: “Cadmium overload and toxicity”. *Nephrol Dial Transplant* 17(Suppl 2), 35 – 39, 2002.
63. Jarup, L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 2003;68:167–182.
64. Kajikawa K., et al., “Morphological changes of the kidney and bone of rats in chronic cadmium poisoning”, *Exp. Mol. Pathol.*, 34(1): 9 – 24, 1981.
65. Kantola M, Purkunen R, Kroger P, Tooning A, Juravskaja J, Pasanen M, et al. Accumulation of cadmium, zinc and copper in maternal blood and developmental placental tissue: differences



- between Finland, Estonia and St Petersburg. *Environ Res* 2000;83:19:54-66.
66. Kazantzis G.: "Cadmium osteoporosis and calcium metabolism". *Biomaterials* 17(5) 493-8 Oct 2004
67. Khassouni CE, Soulaymani R, Maura Y, Allain P. Blood cadmium concentration in the population of the Rabat area, Morocco. *Clin Chim Acta* 2000; 302: 155-60.
68. Kolonel, LN. Association of cadmium with renal cancer. *Cancer*. 1976;37:1782–1787.
69. Koyama H., H. Kitoh, C. Tohyama: "Low dose exposure to cadmium. Its health effects. Genotoxicity and carcinogenicity". *Nippon Eis. Zass.*, 57, 547 - 555, 2002
70. Kozuka H., et al., "Interactive exhibition of heavy metal toxicity in bone metabolism", 115(3): 157 – 69, 1995.
71. Kuhnert BR, Kuhnert PM, Debanne S, Williams TG. The relationship between cadmium, zinc and birth weight in pregnant women who smoke. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157:1247-51.
72. L'Azou L., M. H. Henge-Napoli, L. Minaro, H. Mirto, M. P. Barrouillet, J. Cambar: "Effects of cadmium and uranium on some in vitro renal targets". *Cell. Biol. Toxicol.* 18(5), 329 - 340, 2002
73. Leffel EK., Wolf C., Poklis A., White KL.: "Drinking water exposure to cadmium, an environmental contaminant, results in the exacerbation of autoimmune disease in the murine model". *Toxicology* 188(2,3) 233-50 Jun 2003
74. Linder, M., ed., *Nutritional Biochemistry and Metabolism*, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1985.

75. Madeddu R, Muresu E, Montella A, Chessa G, Cherchi G B et al. Low cadmium concentration in whole blood from residents in Northern Sardinia (Italy) with special reference to smoking habits. JPMH in press
76. Maida A, Solinas G, Masia MD, Diana M, Dettori M, Pirastu R, et al. Epidemiological survey on smoking habit among young students in Sardinia. A cross sectional study. Ann Ig 2005;17(3):209-17.
77. Marzec Z, Schlegel-Zawadzka M. Exposure to cadmium, lead and mercury in the adult population from Eastern Poland, 1990--2002. Food Addit Contam. 2004 Oct;21(10):963-70.
78. Masia MD, Solinas G, Piana A, Dettori M, Sotgiu G, Castiglia P. Smoking habit and behaviour among health professionals. Ann Ig, 2006; 18(3):261-9.
79. Meisinger-Ibrahim B, et al.: Erythrocyte pyrimidine 5' nucleotidase activity in workers exposed to lead, mercury and cadmium. Int. Arch. Occup. Environ. Health 55:247-252,1985.
80. Minciullo PL, Merendino RA, Tigano, Ferlazzo V, Gangemi S. Emerging role of cadmium in allergic dermatologic pathology Giorn It Allergol Immunol Clin 2003;13:13-16
81. Minoia D, Sabbioni E, Apostoli P. Trace elements reference values in tissues from inhabitants of the European community. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. Sci Total Environ 1990; 95: 89-105.
82. Moreau T., J. Lellouch, B. Juguet, B. Festy, G. Orssaud and J. R. Claude: "Blood cadmium levels in a general male population with

- special reference to smoking". Arch. Environ. Health 38, 163 - 167, 1983.
83. Moreno M., C. Marin, F. Vinagre: "Trace elements in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain". Sc. Total. Env. 229, 209 - 215, 1999
84. Moreno MA, Marin C, Vinagre F, Ostapczuch P. Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. Sci Total Environ 1999; 229 (3): 209-15.
85. Mortada WI., Sobh. MA., El-Defrawy MM.: "The exposure to cadmium, lead and mercury from smoking and its impact on renal integrity". Med. Sci. Monit. Cr112-6 Mar 10(3) 2004
86. Muneko Nishij, Kenji Tawara, Ryumon Honda, Jun-ichi Kuriwaki, Hideaki Nakagawa, Kyoko Tanebe and Shigeru Saito. Cadmium and nutritional intake in pregnant Japanese women Toxicology Letters Volume 148, Issue 3, 21 March 2004; 171-176
87. Navas-Acien A., Selvin F., Sharrett AR., Calderon-Aranda E., Guallar e.: "Lead, cadmium, smoking and increased risk of peripheral arterial disease" Circulation 109(25) 3196-201 Jun29 2004
88. Navas-Acien A., Silbergeld EK., Sharrett R., Calderon-Aranda I., Selvin E., Guallar E.: Metals in urine and peripheral arterial disease". Environ. Health Perspect. 113(2) 164-9 Feb 2005
89. Nishijo M., Satarug S., Honda R., Tsuritani I., Aoshima K.: "The gender differences in health effects of environmental cadmium exposure and potential mechanisms". Mol. Cell Biochem. 255(1-2) 87-92 Jan 2004

90. Nordberg G.F.: "Cadmium carcinogenesis and its relationship to other health effects in humans". *Scand. J. Work Environm Health*, 19(1), 104 – 107, 1993.
91. Nordberg, GF. Cadmium and health in the 21st century--historical remarks and trends for the future. *Biometals*. 2004;17:485–489.
92. Okuda B, Iwamoto Y, Tachibana H, Sugita M. Parkinsonism after acute cadmium poisoning. *Clin Neurol Neurosurg* 1997;99:263-5.
93. Olsson IM., Bensryd L., Lundh T., Ottosson Il., Skerfving S., Oskarsson A.:" Cadmium in blood and urine – impact of sex, age, dietary intake, iron status and former smoking – association of renal effects". *Environ. Health Perspect.* 110(12) 1185-90 Dec 2002
94. Opalinska E., Michalak A., Stoma F., Latalski M., Goniewicz M.:Increasing level of prostate-specific antigen and prostate cancer risk factor among 193 men examined in screening procedure" *Ann. Univ Mariae Curie Sklodowoska* 58(2) 57-63 2003
95. Orłowski, C; Piotrowski, JK. Biological levels of cadmium and zinc in the small intestine of non-occupationally exposed human subjects. *Hum Exp Toxicol*. 2003;22:57–63.
96. Oskarsson A., Widell A., Olsson IM., Grawe KP.:“Cadmium in food chain and health effects in sensitive population groups“. *Biometals* 17(5) 531-4 Oct 2004
97. Pant N., Upadhyay G., Pandev S., Mathur N., Saxens DK., Srivatava SP.: “Lead and cadmium concentration in the seminal plasma of men in the general population: correlation with sperm quality”. *Reprod. Toxicol* 17(4) 447-59 Jul-Aug 2003

98. Perry H. M., et al., "Effect of a second metal on cadmium induced hypertension", *Arch. Environ. Health.*, 38: 80 – 90, 1983.
99. Pfeiffer, C., *Mental and Elemental Nutrients*, Keats Publishing Co., New Canaan, Ct., 1975.
100. Pisani P, Faggiano F, Krogh V, Palli D, Vineis P, Berrino F. Relative validity and reproducibility of a food frequency dietary questionnaire for use in the Italian EPIC centres. *Int J Epidemiol* 1997; 26: S152–S160.
101. Pisani P, Faggiano F, Krogh V, Palli D, Vineis P, Berrino F. Relative validity and reproducibility of a food frequency dietary questionnaire for use in the Italian EPIC centres. *Int J Epidemiol* 1997; 26: S152–S160.
102. Puklova V, Batariova A, Cerna M, Kotlik B, Kratzer K, Melichercik J, et al. Cadmium exposure pathway in the Czech urban population. *Cent Eur J Public Health* 2005; 13 (1): 11-9.
103. Rubio C, Hardisson A, Reguera JI, Revert C, Lafuente MA, González-Iglesias T. Cadmium dietary intake in the Canary Islands, Spain. *Environ Res.* 2006 Jan;100(1):123-9.
104. Rukgauer M., J. Klein and D. Kruse-Jarres: "Reference Values for the trace elements copper, manganese, selenium and zinc in the serum/plasma of children, adolescent and adults". *J. Trace Elements Med. Biol.* 11, 92 - 98, 1997.
105. Rvdzewska A., Krol L., Lipinski L.: "Concentration of cadmium in breast cancer tissue of women living in the Wielkopoiska region". *Przel Lek.* 61(7) 786-8 2004

106. Salpietro CD, Gangemi S, Minciullo PL, Briuglia S, Merlino MV, Stelitano A, et al. Cadmium concentration in maternal and cord blood and infant birthweight: a study on healthy non-smoking women. *J Perinat Med* 2002;30:395-9.
107. Salvini, S., Parpinel, M., Gnagnarella, P., Maisonneuve, P., Turrini, A., 1998. Banca dati di composizione degli alimenti per studi epidemiologici in Italia. Istituto Europeo di Oncologia, Milano.
108. Sapunar-Postruznik J, Bazulić D, Kubala H. Estimation of dietary intake of arsenic in the general population of the Republic of Croatia. *Sci Total Environ.* 1996 Nov 18;191(1-2):119-23
109. Sato K., et Al.: "An ultrastructural study of chronic cadmium chloride induced neuropathy". *Acta Neuropathol.* 15, 41, 185, 1978.
110. Schuhmacher M., J. L. Domingo and J. Corbella: "Zinc and copper levels in serum and urine: Relationship to biological, habitual and environmental factors". *Sci. Tot. Environ.* 148, 67 - 72, 1994.
111. Seidal, K; Jorgensen, N; Elinder, CG; Sjogren, B; Vahter, M. Fatal cadmium-induced pneumonitis. *Scand J Work Environ Health.* 1993;19:429-431.
112. Shaikh ZA, Blazka ME, Endo T. Metal transport in cells: cadmium uptake by rat hepatocytes and renal cortical epithelial cells. *Environ Health Perspect.* 1995 Feb;103 Suppl 1:73-5.
113. Silleras M., B. Perz Garcia, A. Mijan de la Torre: "The zinc status in a selected Spanish population. A multivariate analysis". *Nutr. Hosp.* 15 1, 32 - 41, 2000.

114. Sisman AR., Bulbul M., Coker C., Onvural B.:" Cadmium exposure in tobacco workers: possible renal effects". J. Trace Elem. Med Biol 17(1) 51-5 2003
115. Spomenka T., et al., "Cadmium in the blood and seminal fluid of nonoccupationally exposed adult male subjects with regard to smoking habits", Int. Arch. Occup. Environ. Health, 70: 243 – 248, 1997.
116. Staessen JA, Roels HA, Emelianov D, Kuznetsova T, Thijs L, Vangronsveld J, et al. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: prospective population study. Public Health and Environmental Exposure to Cadmium. Lancet 1999;353:1140-4.
117. Stassen C., R. Laurwerys: "Health effects of environmental exposure to cadmium in a population study". J. Hum. Hypertens 7, 195 –199, 1993.
118. STATA Corp. Stata Statistical Software Release 9. College Station, TX: StataCorp LP. 2005.
119. Sutou S, Yamamoto K, Sendota H, Tomomatsu K, Shimizu Y, Sugiyama M. Toxicity, fertility, teratogenicity and dominant lethal tests in rats administered cadmium subchronically.
120. Svartengren, M; Elinder, CG; Friberg, L; Lind, B. Distribution and concentration of cadmium in human kidney. Environ Res. 1986;39:1-7.
121. Telisman S, Jurasovic J, Pizent A, Cvitkovic P. Cadmium in the blood and seminal fluid of nonoccupationally exposed adult male subjects with regard to smoking habits. Int Arch Occup Environ Health 1997;70:243-8.

122. Tetsuo H., et al., "Cythopatological changes induced by cadmium exposure in canine proximal tubular cells: a cytochemical and ultrastructural study", *Nephrom*, 68: 104 – 11, 1994.
123. Truzzi a, Petroselli a, Annibaldi S, Illuminati B, Migliarini S. Atti del Congresso XIX Congresso di Chimica Analitica, 11 – 15 Settembre 2005 Pula (Sardegna)
124. Trzeinka-Ochocka M., Jakubowski M., Razniewska G., Halatek T., Gazewski A.:" The effects of environmental cadmium exposure on kidney function: the possible influence of age". *Environ. Res.* 95(2) 143-150 May 2004
125. Tsukahara T., Ezaki T., Moriguchi J., Furiki K., Fukui Y., Ukai H., Okamoto S., Sakurai S., Ikeda M.:" No significant effect of iron deficiency on cadmium body burden or kidney dysfunction among women in the general population in Japan". *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 76(4) 275-81 May 2003
126. Uetani M, Kobayashi E, Suwazono Y, Kido T, Nogawa K. Cadmium exposure aggravates mortality in woman than in men. *Int J Environ Health Res* 2006; 16(4): 273-9.
127. Viaena MK, Roels HA, Leenders J, De Groof M, Swerts LJ, Lison D et al. Cadmium: a possible etiological factor in peripheral polyneuropathy. *Neurotoxicology* 1999;20:7-16.
128. Waalkes M.P.: "Cadmium Carcinogenesis". *Mut. Res.*, 533, 107 - 120, 2003.
129. Waalkes, MP; Rehm, S; Riggs, CW; Bare, RM; Devor, DE; Poirier, LA; Wenk, ML; Henneman, JR; Balaschak, MS. Cadmium carcinogenesis in male Wistar [CrI:(WI)BR] rats: dose-response



- analysis of tumor induction in the prostate and testes and at the injection site. *Cancer Res.* 1988;48:4656–4663.
130. Watanabe T, Qu JB, Jin C, Liu YT, Yin SN, Nakatsuaka H, et al. Blood cadmium levels in the population of 3 Chinese cities. *Toxicol Lett* 1989; 47: 145-53.
131. Weidner WJ, Sillman AJ. Low levels of cadmium chloride damage the corneal endothelium. *Arch Toxicol* 1997;71:455-60.
132. Wier PJ, Miller RK, Maulik D, Di Sant Agnese PA. Toxicity of cadmium in the perfused human placentae. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;105:156-71.
133. Wilhelm M., Ewers U., Schulz C.:“ Revised and new reference values for some trace elements in blood and urine for human biomonitoring in environmental medicine”. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 207(1) 69-73 Jan 2004
134. Zeng X., Jin T., Buchet JP., Jiang X., Kong Q., Bernard A., Nordeberg GH.:“Impact of Cadmium exposure on male sex hormones: a population-based study in China“. *Environ. Res* 96(3) 338-44 Nov. 2004
135. Zeng X., Jin T., Jiang X., g Q., Nordeberg GF.:“Effects on the prostate of environmental cadmium exposure – a cross sectional population study in China” *Biometals* 17(5) 559-65 Oct 2004
136. Zhang ZW, Moon CS, Watanabe T, Shimbo S, He FS, Wu YQ, et al. Background exposure of urban population to lead and cadmium: comparison between China and Japan. *Int Arch Environ Health* 1997; 69: 273-81.