



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI**

**ISTITUTO DI CLINICA ODONTOSTOMATOLOGICA**

**DOTTORATO DI RICERCA IN ODONTOSTOMATOLOGIA PREVENTIVA**

**XXI CICLO**

**Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di  
metalli pesanti**

**Coordinatore:**

**Chiar.mo Prof. Giacomo Chessa**

**Relatore:**

**Chiar.ma Prof.ssa Pierfranca Lugliè**

**Dottorando:**

**Dott.ssa Laura Caterina Schinocca**

**Anno Accademico 2007-2008**

## Indice

<b>1. Introduzione.....</b>	<b>pag 3</b>
<b>2. Territorio, ambiente ed economia dei comuni studiati.....</b>	<b>pag 5</b>
2.1. Sassari	
2.2. Porto Torres	
2.3. Ottana	
<b>3. Metalli pesanti.....</b>	<b>pag 9</b>
3.1. Cadmio ( <i>Cd</i> )	
3.2. Piombo ( <i>Pb</i> )	
3.3. Nichel ( <i>Ni</i> )	
3.4. Rame ( <i>Cu</i> )	
<b>4. Effetti tossici dei metalli pesanti.....</b>	<b>pag 14</b>
4.1. Cadmio ( <i>Cd</i> )	
4.1.1. Proprietà chimiche, fonte, impieghi industriali	
4.1.2. Esposizione, esposizione occupazionale, fumo	
4.1.3. Tossicità, distribuzione, manifestazioni cliniche, cancro	
4.2. Piombo ( <i>Pb</i> )	
4.2.1. Informazioni chimiche e fisiche	
4.2.2. Tossicocinetica, meccanismi di azione	
4.2.3. Assorbimento, effetti sulla salute, neurologici, renali e ossei, cancro	
4.2.4. Biomarkers utilizzati per identificare o quantificare l'esposizione al piombo	
4.3. Nichel ( <i>Ni</i> )	
4.3.1. Informazioni chimiche e fisiche e usi	
4.3.2. Tossicità, meccanismo della tossicità	
4.4. Rame ( <i>Cu</i> )	
4.4.1. Rame e ambiente, proprietà chimiche, produzione, usi	
4.4.2. Effetti sull'organismo, azione cancerogena	
<b>5. Denti.....</b>	<b>pag 40</b>
5.1. Formazione e sviluppo degli elementi dentali	
5.2. Caratteristiche strutturali di dentina, smalto, cemento	
<b>6. Scopo della ricerca.....</b>	<b>pag 49</b>
<b>7. Materiali e metodi.....</b>	<b>pag 50</b>
7.1. Questionario e campionamento, metodica, preparazione del campione per l'analisi	
7.2. Metodologia per l'analisi dei metalli pesanti	
7.3. Tecnica di spettroscopia di assorbimento atomico (AAS)	
7.4.1. Relazione tra assorbimento atomico e concentrazione	
7.4.2. Sorgente: lampade a catodo cavo (HLC)	
7.4.3. Rivelatore	
7.4.4. Gli atomizzatori: fornetto di grafite	
7.4.5. Interferenze spettrali e spettrali molecolari	
7.4.6. Aspetti metodologici, standards, programma di atomizzazione per i metalli	

Laura Caterina Schinocca

Indagine sugli elementi dentali come possibili indicatori biologici di metalli pesanti

Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva

Università degli Studi di Sassari

<b>8. Analisi statistica.....</b>	<b>pag 62</b>
<b>9. Risultati.....</b>	<b>pag 63</b>
<b>10. Discussione e Conclusioni.....</b>	<b>pag 66</b>
<b>11. Bibliografia.....</b>	<b>pag 73</b>
<b>12. Tabelle e grafici.....</b>	<b>pag 86</b>

## 1. INTRODUZIONE

I metalli pesanti contribuiscono all'inquinamento ambientale tanto che la loro presenza gioca un ruolo importante nell'instaurarsi di alcune malattie.

Diversi studi hanno evidenziato come si possa rilevare sull'uomo la loro presenza attraverso alcuni indicatori biologici, i denti ad esempio sono tessuti biologici facilmente accessibili, disponibili per valutarne l'accumulo e/o la presenza<sup>1-4</sup>.

Infatti il calcio presente nei tessuti mineralizzati, può essere parzialmente sostituito da piccole quantità di questi metalli<sup>5-7</sup>. È, in genere, un processo piuttosto complesso influenzato da vari fattori quali le proprietà chimiche del metallo, i suoi siti di legame, l'età, l'ereditarietà, o la qualità dell'ambiente<sup>8,9</sup>. Per esempio il piombo e il cadmio, quando si trovano accumulati nei tessuti calcificati, competono con alcuni metalli essenziali per l'organismo quali ferro, zinco, rame e calcio limitandone la concentrazione.

I metalli inglobati nei tessuti duri dentali durante la mineralizzazione permangono all'interno della matrice dentale stessa<sup>10</sup>; proprio per questa caratteristica possono essere utilizzati per determinare la presenza di agenti inquinanti depositatisi al loro interno attraverso scambi ionici e, di conseguenza, darci utili informazioni circa l'ambiente. Ancora possono essere utilizzati per determinare la qualità e lo stato di nutrizione del corpo e per quantificare la presenza di elementi essenziali.

Dal momento che il principale componente inorganico dei tessuti duri sia delle ossa che dei denti è il fosfato di calcio cristallino conosciuto meglio come idrossiapatite (OHAp)  $3Ca_3(PO_4)_2Ca(OH)_2$ , i gruppi -OH dell'apatite possono essere sostituiti da ioni del cloro o del fluoro, formando la fluorapatite (FAP) o il cloroapatite (ClAp), rispettivamente, che sono meno solubili dell'OHAp<sup>11</sup>. Nelle ossa dunque il calcio può essere parzialmente sostituito, come conseguenza di alcune reazioni biochimiche, da ioni di stronzio, di bario, di piombo e di alcuni elementi delle terre rare (ad es: lantanio), mentre il fosfato è sostituito da solfato, da carbonato, da citrato, da vanadiato o dall'arseniato<sup>12</sup>. Queste proprietà implicano che l'apatite formi una famiglia di materiali con caratteristiche strutturali simili, proprietà fisico-chimiche differenti e caratteristiche biologiche probabilmente distinte<sup>13-15</sup>. Durante lo sviluppo dei denti, elementi come sodio,

Laura Caterina Schinocca

Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di metalli pesanti

Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva

Università degli Studi di Sassari

potassio, magnesio, ecc., possono essere incorporati nella struttura dentale; alcuni di questi hanno effetti benefici (Cu, Zn, Sr, ecc.), mentre altri, sono altamente nocivi (Pb, Cd, Ni). Oltre il calcio, che è il componente principale della matrice dentale, altri metalli alcalini, come il magnesio e lo stronzio, possono avere funzioni biochimiche nei denti<sup>16</sup> data la loro rassomiglianza chimica. Scopo del presente studio è cercare di determinare la concentrazione di metalli pesanti nei denti umani e i possibili fattori che ne determinano la concentrazione.

## 2. Territorio, ambiente ed economia dei comuni studiati



## 2.1. Sassari

Sassari è ubicata al centro della vasta regione a Nord-Ovest della Sardegna, sorge su un tavolato calcareo lievemente declinante a nord-ovest verso il Golfo dell'Asinara e la pianura della Nurra, mentre a sud-est il terreno è prevalentemente collinare e la città è circondata da numerose valli. Con i suoi 129.687 abitanti è la seconda città dell'isola<sup>17</sup>. Ha una superficie di 546,08 chilometri quadrati per una densità abitativa di 237,5 abitanti per chilometro quadrato. Sorge a 225 metri sopra il livello del mare. L'economia della città è incentrata sul terziario avanzato, in particolare nei *servizi al territorio*, la grande distribuzione e la gestione amministrativa del nord Sardegna, e da diverse piccole e medie imprese.

Nel territorio sono ancora in attività produzioni agricole tradizionali come quella olearia, ortofrutticola, vinicola, casearia e tessile. È sede di numerosi enti di ricerca (come quelli universitari, del CNR, l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, il Servizio Agro-meteorologico della Sardegna, l'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale).

## **2.2. Porto Torres**

Il Comune di Porto Torres è stato fondato nel 1842. La città sorge su un promontorio calcareo al centro del Golfo dell'Asinara, di fronte all'omonima isola, che è uno dei parchi nazionali più importanti della Sardegna dal punto di vista naturalistico e archeologico. L'area del comune di Porto Torres è prevalentemente pianeggiante (si trova nella pianura della Nurra), ad eccezione di alcuni colli, il più alto dei quali è Monte Alvaro (342 m). In questo territorio scorrono due fiumi, il Riu Mannu ed il meno conosciuto e più piccolo Fiume Santo, che traccia il confine tra il comune di Sassari ad ovest e quello di Porto Torres ad est. Ha una superficie di 102,62 chilometri quadrati per una densità abitativa di 215 abitanti per chilometro quadrato e una popolazione di 22.048 abitanti<sup>17</sup>. L'economia è sostenuta soprattutto dalle attività industriali e energetiche benché il settore conosca da molti anni una profonda crisi. Persistono tuttavia altre attività tradizionali come la pesca e l'agricoltura.

Durante la prima metà del Novecento, all'economia prevalentemente legata all'agricoltura e in parte alla pesca, si aggiunge l'esportazione di minerali di ferro estratto nella vicina miniera di Canaglia, già utilizzata in età romana.

Nel 1962 Porto Torres fu dichiarata zona di interesse regionale e nucleo di industrializzazione, diventando subito sede degli stabilimenti petrolchimici della Sarda Industria Resine (SIR). La nuova industria chimica segnò da quel momento in poi un radicale cambiamento economico-sociale, nonché urbanistico, della città, destinata a diventare uno dei centri più importanti dell'industria petrolchimica sarda come dimostra il veloce incremento della popolazione che passò, dal 1961 al 1971, da circa 11.000 a 15.000 abitanti.

Negli stabilimenti industriali di Porto Torres, secondo impianto europeo, si produce principalmente il fenolo, le altre produzioni comprendono: dicloroetano e PVC, alchilbenzene, polistirolo espanso, produzioni di vernici, stoccaggio di bitumi, tubi di polietilene.



### **2.3. Ottana**

Il paese situato al centro della Sardegna presso la valle del Tirso, confinante con Silanus, Orotelli, Oniferi, Orani, Sarule e Borore, conta oggi circa 2700 abitanti<sup>17</sup>. Ha una superficie di 45,16 chilometri quadrati per una densità abitativa di 55,94 abitanti per chilometro quadrato. Sorge a 185 metri sopra il livello del mare.

Le origini di Ottana sono da ricercarsi nel periodo in cui iniziarono i grandi insediamenti nel Centro Sardegna, da cui nascerà la civiltà Protosarda e Nuragica. Numerosi sono i reperti di questi insediamenti tra cui le "Tombe dei Giganti" e le "Domus de Janas". Ottana, come gran parte del territorio sardo, venne interessata da tutta una serie di invasioni fra le quali la prima fu quella punica e poi quella romana, che consolidò un'importanza economica e strategico-militare. L'economia del paese si basa, oltre all'attività tradizionale dell'allevamento, principalmente sull'industria petrolchimica e la produzione di fibre tessili sintetiche.

Nel 1973 nacque ad Ottana l'industria petrolchimica che doveva essere il più grande stabilimento italiano di fibre sintetiche.

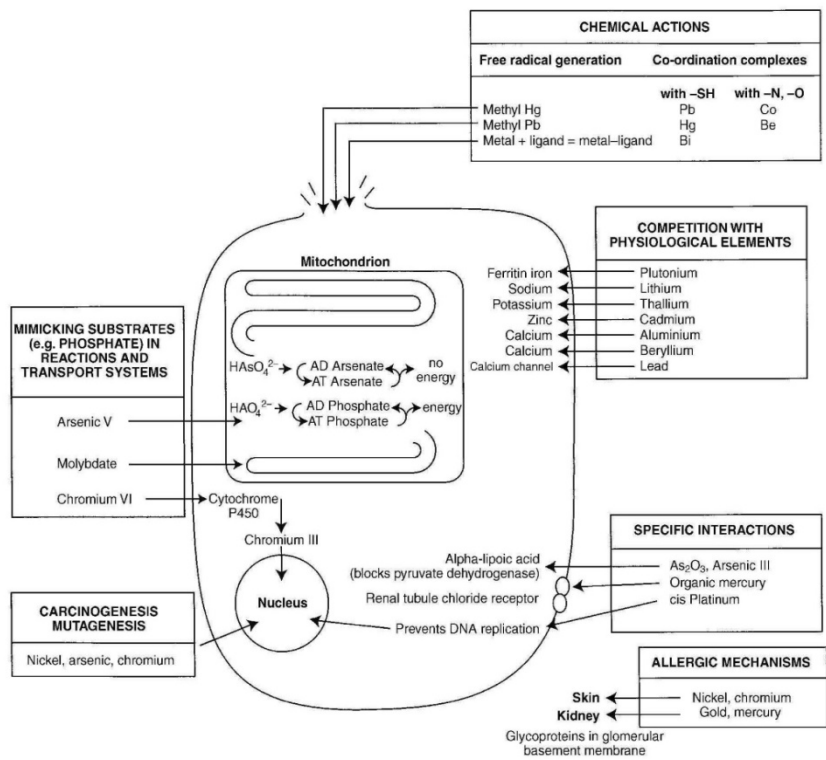
Il polo industriale si occupa della produzione di PET e l'acido tereftalico, il quale è utilizzato come principale materia prima per produrre il PET e anche nelle costruzioni meccaniche ed elettroniche. Il PET per bottiglie viene preferito in genere per la sua trasparenza e per i crescenti problemi ambientali relativi al PVC. Esistono impianti anche per la produzione di pelle sintetica, per la produzione feltrini per pennarelli e per la produzione di energia elettrica.

### **3. Metalli pesanti**

Sono classificati metalli pesanti quegli elementi chimici con le seguenti caratteristiche: densità superiore ai 5,0 g/cm<sup>3</sup>; comportamento da cationi; bassa solubilità dei loro idrati; spiccata attitudine a formare complessi; grande affinità per i solfuri, con i quali tendono a legarsi; diversi stati di ossidazione a seconda del pH. Sono elementi che non possono essere degradati o distrutti ed, in piccola misura, entrano nel nostro corpo attraverso cibo, acqua e aria.

Nei sistemi acquatici sono introdotti come conseguenza dell'erosione dei terreni e delle rocce, delle eruzioni vulcaniche e di diverse attività umane come estrazione mineraria, trattamento, uso di metalli o sostanze che li contengono<sup>18</sup>. Tra i metalli pesanti ne troviamo alcuni più inquinanti di altri come l'arsenico, il cadmio, il cromo, il rame, il nichel, il piombo e il mercurio.

L'attività tossica dei metalli è legata alla forte affinità dei suoi cationi per lo zolfo: infatti i gruppi sulfidrilici (-SH), normalmente presenti negli enzimi che controllano la velocità delle reazioni metaboliche nel corpo umano, si legano facilmente ai cationi dei metalli pesanti o alle molecole che li contengono. Il complesso metallo-zolfo limita l'attività enzimatica determinando, così, un danno per la salute. I metalli pesanti contribuiscono ad aumentare l'inquinamento ambientale tanto che il loro accumulo a livello corporeo e nei tessuti calcificati, gioca un ruolo importante nell'instaurarsi di alcune malattie.

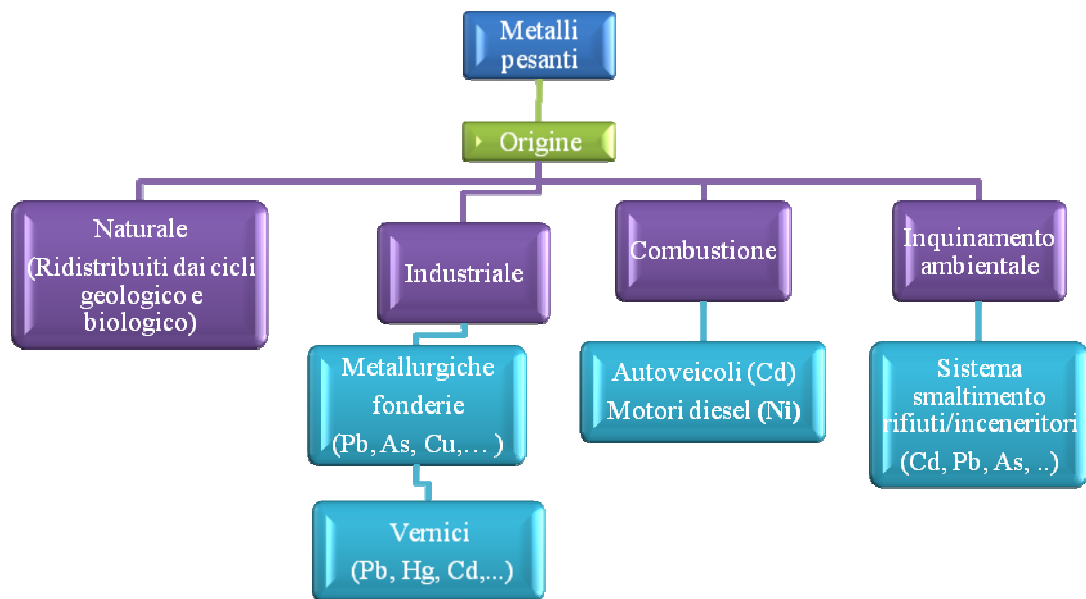


Some molecular and cellular actions of metals. AD= adenosine di-; AT= adenosine tri-

Figura 1. Azione chimica, interazione, carcinogenesi dei metalli pesanti all'interno della cellula<sup>19</sup>

Il loro assorbimento presente soprattutto a livello gastrointestinale varia a seconda delle condizioni dell'ospite, della composizione (inorganica od organica) e dello stato di valenza del metallo. Il sangue è il principale mezzo di trasporto dei metalli mentre le principali vie di escrezione sono quella renale e quella gastrointestinale. In minima parte l'eliminazione può avvenire per traspirazione, esfoliazione della pelle, perdita di unghie e capelli e attraverso la saliva. Alcuni organi quali cervello, ossa, fegato e reni sequestrano determinati metalli in concentrazione relativamente elevata e per anni<sup>20</sup>.

Le fonti di alcuni metalli, sono riassunte nello schema n°1, dal quale si evince come siano di natura ambientale o antropologica.



Schema 1

Metalli pesanti quali ad esempio il cadmio, il piombo, il nichel e il rame riconoscono tra le loro fonti il tabacco e di conseguenza possiamo riscontrarle nel fumo. La loro presenza nel tabacco è subordinata all'uso di prodotti chimici tipici delle pratiche agricole e anche dalle condizioni con cui esso viene coltivato.

D'altronde il rischio non è sempre dato dal metallo in sé ma anche dalla forma chimica con la quale, a seguito della combustione, viene inalato.

Dal momento che il contenuto del nichel nelle sigarette è 1-3 $\mu\text{g}$ ; e circa il 10-20% va via col fumo, ciò indica che è possibile inalare da 2-12  $\mu\text{g}$  di nichel per ogni pacchetto di sigarette fumate<sup>21</sup>.

### 3.1 Cadmio (Cd)

Il cadmio è ritenuto responsabile dell'insorgere di disfunzioni renali, ipertensione, disturbi gastrointestinali e dell'apparato riproduttivo, forme di arteriosclerosi, epatopatie, osteoporosi, insufficienza polmonare, anemia, coliche renali, e diverse forme tumorali<sup>22</sup>. La sua azione si svolge prevalentemente a carico del calcio e del fosforo, determinando a livello scheletrico demineralizzazione, osteomalacia, fratture patologiche; vari studi hanno dimostrato infatti che esiste una relazione dose-effetto tra i livelli di cadmio e la densità minerale ossea<sup>22,23</sup>. Un fattore di

rischio condizionante l'aumento di cadmio nei liquidi biologici è l'abitudine al fumo. Infatti i livelli di cadmio nel sangue e nel liquido seminale sono significativamente più alti nei fumatori rispetto ai non fumatori; esiste, inoltre, una correlazione significativa con il numero di sigarette *pro die*<sup>24</sup>.

### **3.2. Piombo (Pb)**

Il piombo è responsabile di una intossicazione acuta o cronica nota come saturnismo. Il metallo produce i suoi effetti negativi sia nei tessuti mineralizzati, dove si accumula stabilmente al fosforo e al calcio<sup>25</sup>, e riconosciuto dai meccanismi di trasporto transmembrana come ione calcio, sia a livello di processi chimici dell'organismo umano, poiché inibisce la sintesi di numerosi enzimi. A livello del sistema nervoso si descrivono encefalopatie, perdita di memoria, insonnia, paralisi periferiche; sono stati riportati anche algie muscolari, ipertensione, ridotta funzionalità renale e surrenalica, infertilità, coliche intestinali, anemia<sup>26</sup>.

### **3.3. Nichel (Ni)**

Per molte specie animali il nichel è considerato un elemento essenziale, mentre per l'uomo il carattere di essenzialità non è stato ancora dimostrato. I composti inorganici del nichel sono assorbiti generalmente fino al 10% nel tratto gastrointestinale. L'albumina è la proteina responsabile del suo trasporto nell'organismo umano come in quello animale; la maggior parte si ritrova nel sangue, nei muscoli, nel grasso, nelle ossa e nei tessuti connettivali; altri organi di accumulo sono il fegato e i reni<sup>27</sup>.

Il nichel si presenta normalmente a concentrazioni molto basse nell'ambiente. L'alimentazione è la fonte principale, ma anche l'aria, l'acqua potabile, e il fumo di tabacco. Vengono introdotti giornalmente circa 170 µg di nichel con gli alimenti e tra i più ricchi sono il cioccolato, la soia e la farina d'avena. Minori sono invece le concentrazioni di nichel introdotte con l'acqua potabile (2 µg) e con l'inalazione (0.1 -1 µg/giorno), mentre la quota aumenta con il fumo di tabacco. Si è esposti al nichel anche per contatto con le monete e metalli che lo

contengono. All'assorbimento del metallo contribuiscono fattori come: la concentrazione, il tipo di esposizione (inalazione, ingestione, e il contatto), la durata, l'età, la dieta, lo stile di vita e le condizioni di salute dell'organismo<sup>27</sup>.

Il nichel è responsabile di dermatiti da contatto (10-20% della popolazione), le più colpite sono le ragazze per l'utilizzo di orecchini e piercing in cui è presente questo metallo.

### **3.4. Rame (Cu)**

Il rame, metallo pesante che non rientra tra i metalli tossici, è un elemento essenziale per una buona salute e pur tuttavia dannoso a dosi elevate. L'esposizione a lungo termine alle polveri di rame può causare emicranie, vertigini, nausea. Le alte concentrazioni possono causare danno al fegato e ai reni<sup>28</sup>.

Il rame è essenziale per la sintesi dell'eme, ma a livelli eccessivi tuttavia può inibire l'attività di alcuni enzimi come il glucosio-6- fosfatasi, perché il rame legandosi con i gruppi sulfidrilici dell'enzima impedisce la protezione della cellula dai radicali liberi. Esposizioni acute possono causare irritazione e lesione del tratto gastrointestinale.

## 4. Effetti tossici dei metalli pesanti

### 4.1. Cadmio (Cd)

#### 4.1.1. Proprietà chimiche

Il cadmio è presente sulla crosta terrestre alla concentrazione di 0.1–0.5 ppm ed è comunemente associato sia con altri metalli (zinco, piombo e rame) sia nelle rocce solfuree. Il cadmio ha peso atomico 112,4, numero atomico 48 e densità 8,6. È un metallo malleabile, di colore grigio-argento, che fonde a 320.9 °C e bolle a 765 °C. Il suo stato di ossidazione è +2. I suoi principali composti sono l'acetato, il solfuro, lo stearato, l'ossido, il carbonato, il solfato e il cloruro. Alcuni, come ad es. acetato, cloruro e solfato risultano abbastanza solubili in acqua, mentre l'ossido e il solfuro risultano insolubili. Il cadmio è immesso nel suolo, nell'acqua e nell'aria durante i processi di estrazione mineraria e raffinazione di metalli non ferrosi con cui è associato, nella produzione e utilizzo di fertilizzanti con fosfato, combustione del carburante fossile ed suo incenerimento, eliminazione delle ceneri.

Nella tabella 1 sono riportate le distribuzioni del cadmio e dei suoi composti nell'aria, nell'acqua e nel terreno.

<b>Aria</b>	Il cadmio (come ossido, cloruro e solfato) è presente come particella nell'aria o nel vapore (prodotto dai processi ad alta temperatura). Può essere quindi trasportato nell'atmosfera a lunga distanza, e si può depositare nei terreni e sulle superfici dell'acqua.
<b>Terreno</b>	Il cadmio ed i suoi composti possono attraversare il terreno, ma la relativa mobilità dipende da parecchi fattori: quali pH e la quantità di materia organica, e dall'ambiente. Generalmente, il cadmio si lega fortemente con le sostanze organiche e rimane stabile nel terreno, con il risultato di essere assorbito dalle piante.
<b>Acqua</b>	Il cadmio esiste sia come ione idratato o come complesso ionico, o legato con altre sostanze inorganiche o organiche. I composti solubili migrano nell'acqua. Le forme insolubili di cadmio si depositano e vengono assorbite dai sedimenti. La sua concentrazione nelle acque naturali non inquinate è solitamente bassa (<1 µg/L). L'acqua di mare, di solito, contiene cadmio nell'ordine di 0,04-03 µg/L.

Tabella 1

L'utilizzo principale del cadmio è nelle batterie Ni-Cd (83%)<sup>29</sup>, gli altri usi comprendono: i pigmenti per la plastica, la ceramica ed i vetri; stabilizzatori

contro le deformazioni determinate dal calore e dalla luce nel PVC; rivestimenti per acciaio e su alcuni metalli non ferrosi; componente di diverse leghe<sup>29-31</sup>.

I sali del cadmio sono stati utilizzati in quantità limitata come fungicida per i terreni da golf ed i prati inglesi<sup>32</sup>.

Il cloruro del cadmio è usato nella fotografia, nella fotocopiatura, nella tintura, nei lubrificanti, nella fabbricazione di specchi speciali<sup>33</sup>. Tuttavia, il suo utilizzo come prodotto commerciale sta diminuendo<sup>31</sup> a causa del suo impatto ambientale negativo<sup>29</sup>. Per esempio, nell'Unione Europea sono state proposte leggi che ne limitano l'uso nei generi di consumo<sup>29</sup>. Inoltre, da un punto di vista commerciale le batterie Ni-Cd, sono state sostituite da quelle al litio<sup>29</sup>.

Nel grafico 1 è riportato l'utilizzo del cadmio e dei suoi composti a livello industriale

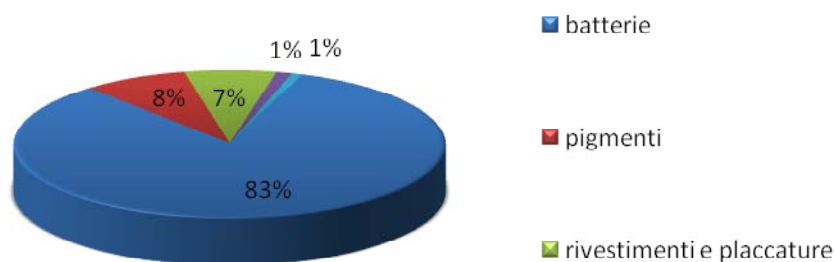


grafico 1. Impieghi Industriali

#### 4.1.2. Esposizione, esposizione occupazionale, fumo

Generalmente la popolazione è esposta al cadmio, attraverso l'ingestione di alimenti e acqua, l'inalazione di particolato dall'ambiente o il fumo di sigaretta.

Per i non fumatori, gli alimenti sono la maggior fonte di esposizione a questo metallo<sup>34,35</sup>.

Il cadmio è introdotto nella catena alimentare attraverso i terreni agricoli, i quali possono contenere il metallo in naturale, o da sorgenti antropogeniche, in quanto si possono depositare polveri sottili presenti dall'atmosfera, per applicazione



diretto di fertilizzanti a base di fosfato<sup>36,37</sup>. Le concentrazioni del cadmio nei terreni, non sono degli indicatori diretti del livello di cadmio nei generi alimentari, ad eccezione di terreni estremamente contaminati, perché altri fattori quale il tipo di raccolto e le pratiche agricole utilizzate influiscono sulla sua concentrazione<sup>37,38</sup>.

Ulteriori fonti di contaminazione negli alimenti sono da ricercare negli utensili ed attrezzature impiegate nella preparazione e nelle trasformazioni alimentari; utensili con smalti e vetro contenenti pigmenti a base di cadmio; gli stabilizzatori utilizzati nei contenitori di plastica per gli alimenti<sup>39</sup>.

Nell'adulto la quantità media giornaliera di cadmio è stata stimato intorno a 30 µg, dove alcuni alimenti come i cereali, specialmente il grano, le patate, le arachidi, soia e semi di girasole, lattuga e spinaci, la carne, soprattutto fegato e crostacei contribuiscono ad aumentarne la concentrazione, mentre risultano minori le concentrazioni provenienti attraverso l'acqua potabile e dall'ambiente<sup>40</sup>. È stato valutato che i fumatori di tabacco sono esposti a 1.7 µg di cadmio per sigaretta e circa il 10% del fumo prodotto viene inalato<sup>35,37</sup>

In natura, le foglie di tabacco accumulano grande quantità di cadmio<sup>37</sup>. Il livello medio per sigaretta è 1.15 µg/sigaretta ±0.43 (AM±ASD). E le sigarette provenienti dal Messico hanno un contenuto di cadmio più elevato (2.03 µg/sigarette ±0.33 AM±ASD) mentre quelle provenienti dall'India hanno il valore più basso (0.35 µg/sigarette ±0.09 AM±ASD)<sup>41</sup>. La misura diretta dei livelli del cadmio nei tessuti corporei conferma che il fumo, approssimativamente, raddoppia la sua quantità corporea rispetto ai non fumatori, con concentrazioni renali in media di 15-20 µg/g in peso per i non-fumatori<sup>42-44</sup>. Poiché la sua escrezione è molto lenta, la vita media del cadmio nel corpo è di 17-38 anni<sup>45</sup>. A livello occupazionale, gli operatori esposti al cadmio ed ai suoi composti sono i saldatori, chi opera nell'elettrodeposizione galvanica, nell'industria metallurgica, nella produzione di pigmenti, la fabbricazione di accumulatori e batterie al Ni/Cd, o quella di apparecchiature radio e TV, nelle lavorazioni della ceramica e delle materie plastiche<sup>31</sup>. La via principale di esposizione è l'inalazione delle polveri e fumi, ingestione accidentale di residui contaminati, attraverso le mani, l'alimento,

o le sigarette. L'esposizione, nell'ambiente di lavoro, può essere tenuta sotto controllo tramite protezioni, controllo e riduzione delle emissioni di cadmio.

La prevenzione, assistita dal monitoraggio ambientale e biologico, quindi, assume un ruolo fondamentale per la salute della popolazione e dell'ambiente.

Saldatori ed operai, che inalano accidentalmente i vapori del cadmio, sviluppano la cosiddetta "febbre da fumo", una polmonite che si manifesta con tosse, dispnea, mialgia, che può evolvere dopo 24±48h in edema polmonare potenzialmente mortale. L'esposizione acuta, a bassi livelli, può produrre effetti reversibili, ma a volte può portare ad una progressiva fibrosi polmonare. L'inalazione cronica conduce all'ostruzione delle vie aeree ed enfisema<sup>46</sup>.

#### **4.1.3. Tossicità, distribuzione, manifestazioni cliniche, cancro.**

L'esposizione prolungata, per ingestione o inalazione, degli esseri umani a diversi dosi di cadmio, oltre a causare disfunzione renale, può provocare debilitazione ossea, una malattia dolorosa che si manifesta soprattutto in individui con nutrizione inadeguata; questa situazione fu riscontrata nelle donne giapponesi esposte ad alti livelli del metallo. Fra il 1940 e 1975, alcune popolazioni giapponesi furono colpite da questa malattia, chiamata "malattia di Itai-Itai". Le manifestazioni cliniche furono: lesione ai tubuli prossimali, anemia e perdita drastica di minerali dall'osso con fratture dolorose.

La diminuzioni nella densità ossea, gli aumenti del rischio di fratture e di osteoporosi erano state osservate sia nelle popolazioni che vivono in zone inquinate dal cadmio e sia in quelle non inquinate. Si scoprì che l'intossicazione era dovuta all'assunzione di riso e acqua contaminate<sup>48</sup>.

Simili effetti, inoltre, sono stati osservati in giovani ratti esposti oralmente al cadmio. I risultati ottenuti sugli animali, suggeriscono che l'esposizione provoca e contribuisce alla diminuzione della mineralizzazione durante il periodo di sviluppo dell'osso<sup>19</sup>. Anche se questi studi indicano che gli effetti sono dovuti all'azione diretta sull'osso, non è escluso che diversi fattori concomitanti, contribuiscano a questi risultati come: lesione renale con conseguente perdita di calcio e di fosfato, alterazione del processo metabolico della vitamina D nel rene.

Presenza di osteomalacia, osteoporosi e nefrocalcinosi sono i sintomi osservati, a livello occupazionale, in operai altamente esposti al metallo e ai suoi composti, ed in persone con una dieta povera di vitamina D e di calcio, carenza di ferro.

Dopo assorbimento, il cadmio si distribuisce in tutto il corpo ma le più alte concentrazioni si trovano nel fegato e nei reni. Non è noto, se il cadmio subisce processi metabolici quali: ossidazione, riduzione, o alchilazione come accade per altri metalli pesanti (per esempio mercurio).

Una volta assorbito, è trasportato nel sangue legato alle proteine a basso peso molecolare, metallothioneina, o ad altre proteine ad alto peso molecolare, albumina<sup>48,49</sup>. La produzione della metallothioneina è stimolata sia dalla presenza del cadmio che dallo zinco (nonché da alcuni metalli bivalenti come il rame e il mercurio). La metallothioneina (MT) è una proteina intracellulare a basso peso molecolare, ( $6\pm 7000$  Da) di cui il 30% costituita da amminoacidi contenenti gruppi solfuri. La MT è importante per la regolazione del metabolismo del rame e zinco e nella detossificazione da metalli pesanti, particolarmente il cadmio. Tuttavia, il ruolo più importante della MT non è ancora conosciuto.

La sua sintesi è indotta da molte sostanze, che includono zinco, cadmio, rame, mercurio, oro, bismuto e alcuni composti non metallici (anche a concentrazioni non fisiologiche) ma sempre alla presenza di zinco intracellulare. La sintesi è regolata dall'interazione con glucocorticoidi e una molteplicità di mediatori dell'infiammazione.

La relazione biochimica tra cadmio e metallothioneina è fondamentale per la sua tossicità e per il suo accumulo nei tessuti

Negli epatociti, MT è metabolizzata sia nei compartimenti lisosomiali che non, in funzione del metallo a cui è legato; circa 80 h per il complesso cadmio-MT e 20 h per il complesso zinco-MT.

Nel plasma la concentrazione di MT aumenta in risposta alla tossicità del cadmio o di rame a livelli acuti e diminuisce in mancanza di zinco a cui è legata la sua sintesi. Infatti, lo zinco è utilizzato come pre-trattamento, in quanto è stato dimostrato una riduzione della tossicità di alcuni composti del cadmio sia negli animali sia negli uomini<sup>19</sup>.

La disfunzione renale negli esseri umani, a causa di esposizione cronica al metallo, si manifesta con un' aumento dell'escrezione di proteine a basso peso molecolare, specialmente  $\beta$ 2-microglobuline, glicoproteina di formazione complessa umana (pHC); aumento di enzimi intracellulari come N-acetile- $\beta$ -glucosaminidasi (NAG) nelle urine; ed un aumento di calcio, glicosuria, ammino aciduria, poliuria, ed diminuzione dell'assorbimento di fosfato. I sintomi clinici derivano dalla degenerazione e dall'atrofia dei tubuli prossimali, o (nei casi più drastici) dalla fibrosi interstiziale del rene<sup>29</sup>.

Gli ioni  $\text{Cd}^{2+}$  possono indurre l'inattivazione di enzimi metallo-dipendenti, attivazione della calmodulina (proteina modulata dal calcio (CALcium MODULated proteIN), una proteina intermediaria che rilascia segnali ai vari enzimi sensibili al calcio) e l'inizio della produzione di specie ossigenate attive<sup>35,36</sup>.

L'effetto tossico deriva dalla capacità limitata del rene di sintetizzare a livello del citosol, di nuova metallothioneina in risposta ad un aumento di cadmio<sup>50</sup>, che si accumula nelle cellule dei tubuli renali, con una vita media di  $17\pm 30$  anni. Tuttavia, anche il cadmio legato alla metallothioneina, può avere attività nefrotossico, perché ha la capacità di danneggiare le membrane dei tubuli renali durante l'assorbimento<sup>50</sup>.

Il cadmio si lega anche con altri leganti, con conseguente danno irreversibile per i reni. Questo effetto si manifesta con aumento dell'escrezione urinaria di proteine a basso peso molecolare, che progredisce fino ad arrivare a ipercalciuria, glicosuria, fosfaturia, e aminoaciduria. L'ipercalciuria, l'escrezione di calcio nelle urine, è un indice importante per stabile, una correlazione tra la malattia e presenza di cadmio nell'organismo<sup>51</sup>. Poiché la tossicità del cadmio dipende dalla relativa concentrazione nel rene, gli effetti tossici negli esseri umani non sono stati osservati nelle brevi esposizioni.

Il danno respiratorio causato dall'esposizione ed inalazione acuta da alti livelli di cadmio può determinare un'alterazione polmonare che può durare per molti anni dopo l'esposizione<sup>38,39</sup>.

In un studio, *in vitro*, condotto sull'avvelenamento da metalli pesanti, ha messo in evidenza che il cadmio interferisce nella sintesi del pro collagene nei fibroblasti

polmonari. Infatti si è osservato una diminuzione del processo di riparazione dei polmoni, con conseguente lesione del tessuto connettivo, e quindi un suo possibile coinvolgimento nell'infezioni polmonare nei fumatori e delle persone esposte professionalmente<sup>52</sup>.

Un altro effetto dell'esposizione a lungo termine, è il danno della funzione olfattiva e dell'epitelio nasale. Il cadmio assorbito è allontanato dal corpo molto lentamente, attraverso le feci e urina. Esistono pochi dati sullo sviluppo e crescita di popolazioni esposte a questo metallo. Alcuni studi, riportano che l'esposizione su gestanti può causare diminuzione del peso del nascituro, mentre altri studi non trovato un rapporto significativo fra i livelli materni di cadmio ed il peso corporeo del nascituro.

In alcuni studi sugli operai esposti al cadmio presente nell'aria e negli studi sui ratti che hanno respirato in cadmio è stato riscontrato il cancro polmonare. The U.S. Department of Health and Human Services (DHHS) ha riconosciuto che il cadmio ed i suoi composti sono conosciuti come agenti cancerogeni per l'essere umano. L'agenzia internazionale per la ricerca sul Cancro (IARC)<sup>31</sup> ha determinato che il cadmio è cancerogeno agli esseri umani. L'EPA ha classificato il cadmio come probabile agente cancerogeno umano (gruppo B1), basandosi sulla valutazione di un aumento nel cancro polmonare in esseri umani e del cancro polmonare nelle cavie da laboratorio. In alcuni studi, l'esposizione del cadmio è stata collegato all'aumento della mortalità per il cancro alla prostata e ai polmoni<sup>53,54</sup>.

## 4.2. Piombo (Pb)

### 4.2.1. Informazioni chimiche e fisiche

Il piombo è un elemento naturale ed appartiene al 14 gruppo (IVA) della tabella periodica. Il piombo naturale è una miscela di quattro isotopi stabili,  $^{208}\text{Pb}$  (51-53%),  $^{206}\text{Pb}$  (23.5 - 27%),  $^{207}\text{Pb}$  (20.5-23%) e  $^{204}\text{Pb}$  (1.35-1.5%).

Gli isotopi del piombo sono il prodotto di decadimento di tre elementi naturali radioattivi:  $^{206}\text{Pb}$  da uranio,  $^{207}\text{Pb}$  da attinio e  $^{208}\text{Pb}$  da torio. Il piombo non è un elemento particolarmente abbondante in natura, ma i suoi giacimenti minerali sono ampiamente distribuiti nel mondo. Esiste in tre stati di ossidazione: Pb(0), metallo; Pb(II); e Pb(IV). Nell'ambiente esiste principalmente come Pb(II).

Le sue proprietà chimiche e fisiche, densità, basso punto di fusione ed resistenza alla corrosione nell'ambiente, lo rendono un metallo utilizzato per le tubature, saldatura, e pile. Una volta esposto all'aria e all'acqua, si formano pellicole di solfato del piombo, di ossidi di piombo ed i carbonati del piombo; queste pellicole fungono da barriera protettiva che ritarda o ferma la corrosione del metallo<sup>55,56</sup>.

Il piombo tetrametile e tetraetile sono i composti organici più importanti, a causa del loro ampio impiego come agente antidetonanti nelle benzine.

Il piombo è un elemento molto diffuso nella litosfera, è facilmente estraibile dai suoli ed è quindi rilevabile in tutti i costituenti delle piante. La naturale concentrazione di piombo nei suoli è compresa nell'intervallo 2-200 mg/kg (valore medio 16 mg/kg), ma le variazioni possono essere considerevoli, specialmente per quanto riguarda quei terreni che si trovano nelle vicinanze di aree industrializzate o ad intenso traffico stradale. Per questo motivo, nelle regioni altamente industrializzate o dove è presente un'elevata presenza di piombo, per cause naturali, sono riscontrabili nelle piante livelli anche 10-50 volte superiori di quelli che normalmente si rilevano in zone diverse. Alcuni studi hanno dimostrato che il piombo assorbito dal suolo viene confinato in misura maggiore nelle radici (fatta eccezione per poche piante erbacee), una piccola parte si accumula nelle foglie e i germogli, mentre una frazione ancora inferiore raggiunge gli animali attraverso il foraggio.

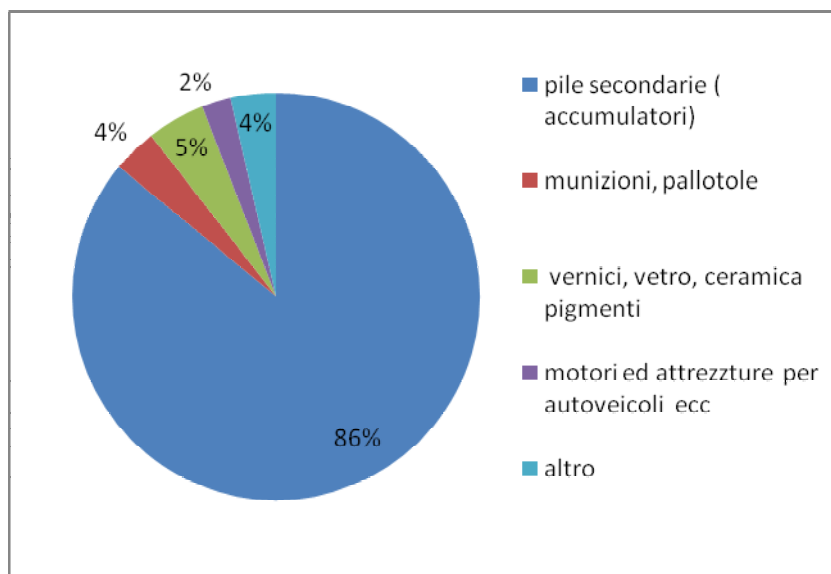


grafico 2. Impieghi industriali <sup>58</sup>

Nella tabella 2 sono stati riassunti gli usi e le vie di esposizione della popolazione al piombo ed ai suoi composti.

Tabella 2 Forma chimica, usi, vie di esposizione al piombo

Forma Chimica	Usi	Via di Esposizione
<ul style="list-style-type: none"> <li>- piombo metallico</li> <li>- piombo e i suoi composti (sali)</li> <li>acetato di piombo</li> <li>cloruro del piombo</li> <li>nitrato del piombo</li> <li>ossido del piombo</li> <li>solfato di piombo</li> <li>sulfuro di piombo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estetiche e tintura di capelli - alcune tinture di capelli di produzione non occidentali, contengono il piombo.</li> <li>- Apparecchiatura per la pesca</li> <li>- vernice a base di piombo</li> <li>- Batterie di piombo</li> <li>- applicazioni per circuiti elettriche</li> <li>- munizioni</li> <li>- Altri usi del piombo comprendono: la produzione delle leghe del, materiali di saldatura, protezione per le macchine dai raggi X e la fabbricazione dei materiali resistenti all'acido e di corrosione utilizzati nell'edilizia</li> </ul>	<p>In generale, l'ingestione è la fonte primaria di esposizione della popolazione.</p> <p>I più esposti sono gli individui che vivono vicino alle fonderie, dove si riciclano le batterie, e altre fonti industriali</p> <p>i saldatori, idraulici, minatori, operai delle fonderie e raffinazione sono potenzialmente più esposti</p> <p>Contaminazione dell' acqua potabile attraverso le tubature</p> <p>Si trova nei contenitori di ceramica per alimenti o per liquidi, che utilizzano vernici al piombo</p> <p>inalazione di polveri di piombo possono essere rilasciate durante le saldature e smerigliatura di vernici.</p> <p>Anche i fumatori sono esposti al piombo, infatti il tabacco delle sigarette contiene piccole quantità</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Organico</li> <li>piombo tetraetile</li> <li>piombo tetrametile</li> </ul>	<p>L'uso di piombo nella benzina ha contribuito alla sua dispersione nell'ambiente. Usi correnti: Benzina per i veicoli, per gli aeroplani</p> <p>Additivi della benzina (per aumentare il numero di ottani) ancora in uso in alcuni Paesi nel Mondo</p>	<p>Inalazione</p> <p>Studi dermatologici sugli animali hanno dimostrato che il piombo organico è ben assorbito attraverso la pelle</p>

#### **4.2.2. Tossicocinetica, meccanismi di azione**

L'assorbimento gastrointestinale dei sali solubili del piombo negli esseri umani adulti, è più alto durante il digiuno (40-50%), mentre è circa 3-15% una volta ingerito con gli alimenti. Studi sulla nutrizione, hanno messo in evidenza che l'assorbimento gastrointestinale del piombo nei bambini è più alto e può rappresentare 40-50% della dose ingerita. Questi dati sono confermati dagli studi eseguiti su giovani cavie da laboratorio. L'assorbimento è influenzato dalle condizioni nutrizionali, un più alto assorbimento di piombo si osserva in bambini che sono anemici, e in mancanza di calcio. La somministrazione di calcio diminuisce l'assorbimento del piombo, mentre la vitamina D ne aumenta l'assorbimento. La distribuzione di piombo nell'organismo è simile per tutti i modi in cui avviene l'esposizione. Inizialmente, il piombo si distribuisce nel plasma e nei tessuti molli, ma il 99% del piombo nel sangue si trova nell'eritrocita, dove è legato all'emoglobina<sup>58-61</sup>. La concentrazione di piombo nel sangue varia con l'età e stato fisiologico (gravidanza, allattamento, menopausa) e altri fattori che sono funzione dal tipo di esposizione.

Circa 40-75% di piombo nel plasma è unito alle proteine, di cui l'albumina sembra essere il veicolo prevalente<sup>63</sup>. Il piombo può anche essere legato alle  $\gamma$ -globuline<sup>63</sup>. Il piombo nel siero che non è legato alle proteine, esiste in gran parte come complessi con residui solfidrilici a basso peso molecolare (per esempio, cisteina, omocisteina) ed altri leganti<sup>62</sup>.

L'emivita nel sangue è in media di 30 giorni<sup>64</sup>. Il piombo si accumula nel sangue, questo piombo nell'osso rappresenta circa 73% del peso corporeo nei bambini, ed aumenta a 94% in adulti. Il piombo non assorbito è eliminato con le feci; il piombo assorbito, ma che non viene accumulato è rimosso attraverso l'urina e la bile<sup>65</sup>.

#### **4.2.3. Assorbimento, effetti sulla salute, neurologici, renali e ossei, cancro**

Circa il 10% del piombo ingerito viene assorbito nel tratto gastrointestinale; questa frazione può essere più elevata nei neonati e nei bambini e in certe situazioni di deficienza nutrizionale. Il piombo assorbito dall'organismo umano viene trasportato dal sangue legato agli eritrociti, gradualmente distribuito nei



tessuti e quindi depositato nei tessuti di accumulo, essenzialmente nelle ossa; nelle esposizioni esposti a bassi livelli, circa il 90% del carico totale di piombo nel corpo umano si trova nelle ossa. Altri siti di accumulo di questo elemento sono il fegato, i reni, la corteccia celebrale e il midollo. Il risultato dell'accumulo di piombo nel corpo umano durante un certo periodo di tempo può causare sia effetti acuti che cronici, che risultano correlati al sistema nervoso, gastrointestinale, renale ed ematopoietico.

Gli effetti del piombo sulla salute, sono simili sia per l'inalazione e sia per esposizione alle vie gastrointestinali. Le maggiori conseguenze si riscontrano a livello neurologico (specialmente nei bambini), ematologico e cardiovascolare. Studi epidemiologici confermano che esiste un'associazione fra esposizione al piombo prenatale e postnatale e sullo sviluppo neurologico in bambini e neonati e che è utile l'analisi del sangue (PbB) come indicatore della tossicità.

Livelli elevati di esposizione al Pb provocano disturbi nella sintesi dell'eme, con conseguente accumulo di alanina (ALA) nei tessuti e dell'escrezione elevata dell'ALA nell'urina, aumento dello zinco proto-porfirina nell'eritrocita, riduzioni dell'emoglobina nel sangue ed in un'anemia ipocromica e normocitica. Un tipico esempio di effetto cronico sul sistema ematopoietico è l'anemia micro o normocitica, ma non macrocitica, causata da un effetto combinato dell'inibizione della sintesi dell'emoglobina e dell'accorciamento della vita degli eritrociti.

Molti studi epidemiologici hanno rilevato degli aumenti della pressione sanguigna in associazione agli aumenti di piombo nel sangue. Ai livelli elevati dell'esposizione negli esseri umani, il piombo genera le lesioni cardiache e anomalie elettrocardiografiche. I meccanismi da cui il piombo potrebbe interessare la pressione sanguigna comprendono gli effetti sui parecchi sistemi regolatori di ormoni e neurale, cambiamenti nella reattività vascolare del muscolo liscio, contrattilità del muscolo cardiaco, cambiamenti nei sistemi di trasporto del catione della membrana delle cellule ed effetti possibili sulle cellule endoteliali vascolari<sup>65</sup>. La nefropatia cronica negli esseri umani è associata con i livelli di PbB di 40-100 µg/dL. Gli effetti negativi sui testicoli e sullo sperma sono stati osservati in uomini esposti professionalmente con valori di PbB 40-50 µg/dL e studi più recenti mettono in evidenza che anche se la concentrazione del piombo nel

sangue è  $<40 \mu\text{g/dL}$ , questa può influire sulla conta e morfologia degli spermatozoi<sup>65</sup>.

L'effetto neurologico più importante per gli adulti è l'encefalopatia, che è un termine generale per descrivere le varie malattie che interessano la funzione del cervello. I sintomi iniziali che possono svilupparsi nelle settimane dopo l'esposizione comprendono irritabilità, diminuzione dell'attenzione, emicrania, tremito muscolare, perdita di memoria e allucinazioni; queste condizioni possono peggiorare, a volte bruscamente, portando il paziente al delirio, alle convulsioni, alla paralisi, al coma ed alla morte<sup>66</sup>.

I bambini sembrano essere più sensibili alla tossicità neurologica rispetto agli adulti. che gli anziani possano essere un'altra popolazione sensibile al piombo, i dati suggeriscono un'associazione fra la diminuzione delle funzione neuronali con l'aumento del PbB negli soggetti anziani ( $\text{TTD}_{\text{NEURO}}$ ). Anche se i risultati degli studi epidemiologici nei bambini non sono assolutamente costanti, parecchie meta-analisi hanno indicato che una decremento altamente significativo di quoziente d'intelligenza di 1-3 punti è associata con un cambiamento in PbB da 10 a  $20 \mu\text{g/dL}$  nei bambini<sup>67-69</sup>. È stato determinato che i livelli piombo nel sangue  $> 10 \mu\text{g/dL}$  devono essere considerati elevati nei bambini, per il suo effetto sul sistema nervoso centrale.

Negli animali, il piombo altera un certo numero di sistemi dei neurotrasmettitori come dopamina, noradrenalina, serotonina ed gli acidi gamma amino butirrico(GABA)<sup>65</sup>. La nefropatia cronica è associata con i livelli di PbB di 40-100  $\mu\text{g/dL}$  negli esseri umani esposti al piombo per motivi professionali. Ci sono alcune indicazioni di danno renale in uno studio condotto su bambini la cui concentrazione di PbB medio era  $34.2 \mu\text{g/dL}$  (aumento dell'attività dell'N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasi (NAG) nell'urina, un indicatore sensibile)<sup>70</sup>.

**Tabella 3 Concentrazioni limite in funzione dell'organo bersaglio (TTD)**

TTD <sub>NEURO</sub>	10 µg/dL PbB
TTD <sub>RENAL</sub>	34 µg/dL PbB
TTD <sub>CARDIO</sub>	10 µg/dL PbB
TTD <sub>HEMATO</sub>	10 µg/dL PbB
TTD <sub>TESTIC</sub>	40 µg/dL PbB

Negli adulti, circa 94% del piombo presente nell'organismo si trovato in ossa<sup>71</sup>. Nei bambini la percentuali nell'osso è 73%. Le concentrazioni nell'osso aumentano con l'età durante il corso della vita<sup>71,72</sup>. Questa grande concentrazione di piombo nelle ossa di un adulto può servire ad monitorare i livelli del piombo dovuta all'esposizione, quando non è più presenza nel sangue<sup>73,74</sup>. The International Agency for Research on Cancer (IARC) ha determinato, attraverso lo studio sugli animali, che il piombo e i suoi composti sono possibili agenti cancerogeni (Gruppo 2B)<sup>75</sup>. EPA classifica il piombo nel gruppo B2—probabile agente cancerogeno per l'uomo<sup>76</sup>.

#### **4.2.4. Biomarkers utilizzati per identificare o quantificare l'esposizione al piombo**

Il piombo nel dente è stato considerato un biomarker potenziale per la misurazione dell'esposizione al piombo a lungo termine (per esempio, anni) perché si accumula nella dentina e lo smalto, e questa situazione viene mantenuto fino alla perdita o estrazione del dente<sup>78-81</sup>.

La formazione della corona dentinale e dello smalto nei denti decidui è completa prima che i bambini comincino a gattonare; tuttavia, il piombo nei denti decidui non si distribuisce uniformemente.

Le differenze nei livelli del piombo e nelle stabilità dell'isotopo utilizzato nell'analisi, suggeriscono che l'assunzione di piombo nello smalto e nella dentina si presenti in tempi differenti<sup>82</sup>. Il piombo nello smalto dovrebbe riflettere soprattutto l'esposizione al piombo che verifica nell'utero e nella prima infanzia, prima dell'eruzione di dente.

La dentina sembra continuare ad accumulare il piombo dopo l'eruzione del dente, quindi, il piombo della dentina riflette l'esposizione fino al tempo in cui i denti

sono persi o estratti <sup>83-85</sup>. L'accumulo di piombo nella dentina dei denti permanenti può continuare per la tutta la durata del dente <sup>81,85</sup>.

Poiché è in contatto diretto con l'ambiente esterno, i livelli del piombo nello smalto possono essere influenzati sia dai livelli del piombo nella dentina e dall'usura di dente <sup>86</sup>.

La concentrazione media di piombo nei denti è 12 µg/g. In uno studio su 63 soggetti, il piombo della dentina è risultato come una stima delle concentrazioni di piombo nella tibia, rotula e nell'osso 13 anni dopo il l'analisi del dente<sup>87</sup>.

### 4.3. Nichel (*Ni*)

#### 4.3.1. Informazioni chimiche e fisiche e usi

Il nichel è un metallo di transizione del VIII gruppo della tavola periodica. Può esistere in diversi stati di ossidazione, -1,0,+2,+3,+4, ma lo stato di ossidazione +2 è quello più importante nelle normali condizioni ambientali.

Forma, con altri metalli diversi tipi di acciai, in quanto aggiunto a questo metalli aumenta la durezza, forza, e resistenza alla corrosione. Il più utilizzato è l'acciaio inossidabile, lega nichel - rame. Il nickel è un metallo di colore bianco-argento, malleabile, con un peso atomico di 58,71, numero atomico di 28 e una densità di 8,9, l'elemento fonde a 1453 °C e bolle a 2732 °C. I composti di maggiore interesse sono rappresentati da nichel ossido, idrossido, solfuro, solfato e cloruro. Il nichel carbonile è un composto incolore, volatile, che bolle a 43 °C e si decompone a temperature superiori a 50 °C. Il metallo si ritrova nei minerali sotto forma di solfuro di nichel e ferro mescolato con pirrotite e talora calcopirite, solfuri di ferro contenenti l'arseniuro di nichel (niccolite) e silicato idrato di magnesio e nichel (garnierite).

Nell'acqua di mare i livelli di questo elemento sono molto bassi, generalmente compresi tra 0,1 e 0,5 µg/L. In uno studio sulla concentrazione del metallo nell'acqua potabile in U.S.A circa il 97% dei campioni esaminati presentava una concentrazione <20 µg/L e circa l'80% una concentrazione <10 µg/L<sup>88</sup>.

In condizioni normali, solo in casi eccezionali sono stati riscontrati livelli di metallo >75 µg/L. Tuttavia, valori >200 µg/L sono stati osservati nelle acque potabili di zone minerarie. È comunque ragionevole affermare che l'acqua potabile contribuisce con meno di 10 µg all'assunzione giornaliera di nichel. Nei suoli, le concentrazioni dell'elemento possono variare ampiamente da 3 a 1000 mg/kg in dipendenza del contenuto minerale dello strato superficiale del terreno. L'assunzione di nichel con la dieta risulta quanto mai scarsa; concentrazioni variabili tra 0 e 2,59 µg/g sono state osservate per alcuni vegetali e tra 0,3-1,7 µg/g per alcuni organismi marini.

Per molte specie animali il nichel è considerato un elemento essenziale, mentre per l'uomo il carattere di essenzialità non è stato ancora dimostrato. Il nichel e i

suoi composti sono sensibilizzanti e le dermatiti da contatto dovute a questo elemento sono molto comuni nella popolazione generale e nei lavoratori esposti<sup>89</sup>. L'assorbimento del nickel inalato dipende dalla solubilità dei suoi composti: l'ossido per esempio, presenta una scarsa solubilità e viene trattenuto nei polmoni. I composti inorganici del nichel sono assorbiti generalmente fino al 10% nel tratto gastrointestinale. L'albumina è la proteina responsabile del suo trasporto nell'organismo umano come in quello animale; la maggior parte del nickel si ritrova nel sangue, nei muscoli, nel grasso, nelle ossa e nei tessuti connettivali; altri organi di accumulo sono il fegato e i reni. Una esposizione eccessiva ai composti del nichel può causare una varietà di effetti locali, ma l'unico composto che è in grado di provocare effetti sistemici nell'uomo è il nichel carbonile ( $\text{Ni}(\text{CO})_4$ ). Questo composto, altamente tossico per gli organismi, viene assorbito rapidamente per via polmonare e successivamente decomposto in monossido di carbonio, il quale si lega all'emoglobina, mentre il nichel viene ossidato ed escreto attraverso i reni<sup>90</sup>.

#### **4.3.2. Tossicità, meccanismo della tossicità**

Il nichel è un metallo essenziale in tracce per molti batteri e piante e può giocare un ruolo nel metabolismo d'organismi superiori<sup>91</sup>. In questi organismi è coinvolto in enzimi che catalizzano reazioni sia non-redox (ureasi, gliossalasi I), che redox (idrogenasi, carbonio-monossido deidrogenasi, superossido dismutasi), e proteine coinvolte nel trasporto, accumulo e regolazione delle concentrazioni del metallo.

Come per la maggior parte dei metalli di transizione, l'assorbimento, il trasporto e l'accumulo, la concentrazione intracellulare e biosintesi dei Ni-metallo enzimi è fortemente regolata da proteine che legano specificatamente il nichel. Queste proteine includono esempi di permeasi (proteine di trasporto da un compartimento cellulare ad un altro) Ni-specifiche<sup>92</sup>, metallo-chaperons (proteine "accompagnatrici"), che assistono quelle native mediando in qualche modo il ripiegamento delle catene polipeptidiche<sup>93</sup>, (UreE) e proteine coinvolte nella regolazione della biosintesi (NikR)<sup>94</sup>.

Ciononostante, in certe condizioni, il nichel è un potente agente cancerogeno come riportato dall'International Agency for Research on Cancer –1990 (IARC)<sup>95</sup>.

I composti del nichel sono largamente utilizzati nell'industria moderna.

Da un punto di vista commerciale il nichel è un elemento estremamente importante. I fattori che fanno del nichel e delle sue leghe dei materiali di rilievo sono: forza, resistenza alla corrosione, alta duttilità, buona conducibilità termica ed elettrica, proprietà catalitiche. Il nichel è soprattutto utilizzato nelle leghe per le sue proprietà chimiche e fisiche come la resistenza alla corrosione, la resistenza termica, la durezza. Le leghe di nichel sono spesso divise in categorie, a seconda del metallo primario a cui è legato e dal contenuto di nichel. Le leghe di Rame-nichel (per esempio, leghe Monel) sono usate per gli impianti idraulici industriali, le attrezzature petrochimiche, gli scambiatori di calore, le pompe e gli elettrodi per saldatura. Il metallo di invenzione contiene il rame e 25% di 75% nichel.

Le leghe del Nichel-cromo (per esempio, nicromo) sono usate per gli elementi riscaldanti. Le leghe del Nichel-ferro-cromo sono (per esempio, Inconel) utilizzate per la loro resistenza alla corrosione e resistenza alle alte temperature. Il nichel di Raney, formato per il 50% di alluminio ed il 50% di nichel è utilizzato come catalizzatore nelle reazioni di idrogenazione. Ma la maggior quantità di nichel è utilizzata per formare leghe con il ferro, gli acciai inossidabili e le ghisa. L'acciaio inossidabile può contenere fino a il nichel 25-30%, anche se in media la quantità di nichel 8-10% .Oltre per le sue caratteristiche di resistenza, durezza, resistenza alla corrosione, il nichel è utilizzato per le sue proprietà magnetiche. La maggior parte dei magneti permanenti sono fatti delle leghe di ferro e di nichel <sup>96</sup>. I sali del nichel sono usati nella placcatura elettrolitica, in ceramica, pigmenti e come catalizzatori. Il nichel inoltre è utilizzato nelle batterie del nichel-cadmio (Ni-Cd) nichel-metallo idrato (NiMH)<sup>97</sup>.

Nel grafico 3 è riportata la distribuzione del nichel nei diversi settori industriali, nella tabella 4 sono stati riportati i tipi di esposizione nelle aree di lavoro, la concentrazione media di nichel in questi luoghi.

Grafico 3 Impieghi industriali

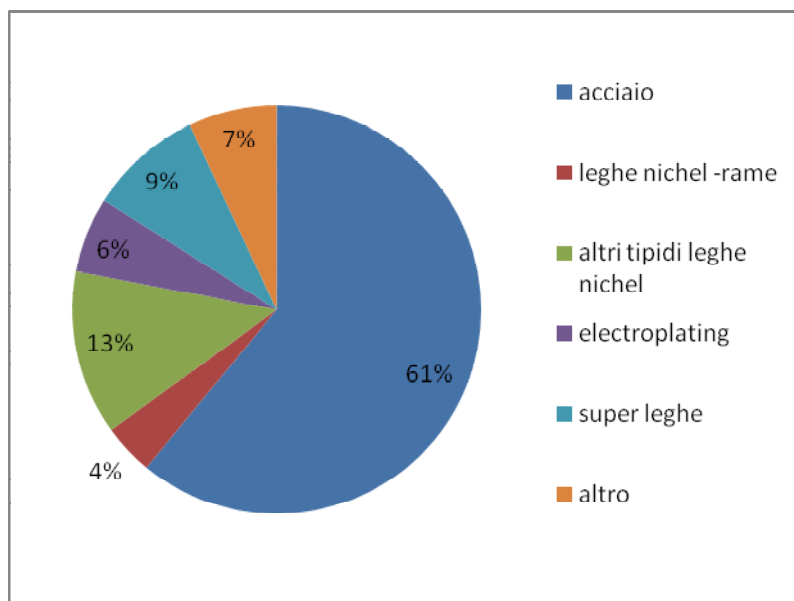


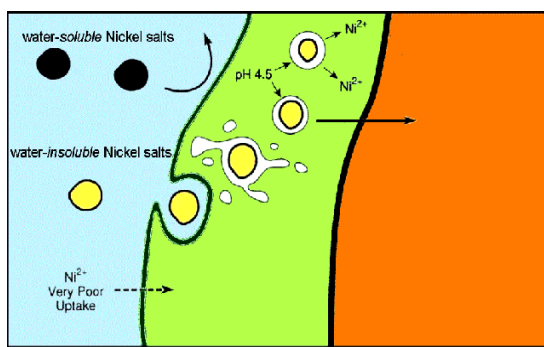
Tabella 4 Vie di esposizione al Nichel

tipi di esposizione			
aree di lavoro	tipi di esposizione	concentrazione del nichel mg Ni/m <sup>3</sup>	
		range	media
<b>Rifiniture e lavorazioni a freddo</b>	metallo in polvere, lubrificanti, tempere	0.001 - 2.3	0.0064
<b>lavorazioni a caldo</b>	metallo in polvere, ossidi, lubrificanti	0.001 - 4.2	0,077
<b>fusione</b>	metallo in polvere, ossidi, fumi	0.001 - 4.4	0.083
<b>molatura</b>	metallo in polvere, ossidi, abrasivi	0.001 - 2.3	0,2
<b>servizi vari, compreso la manutenzione</b>	fumi di saldatura, polveri, solventi, amianto, lubrificanti, i prodotti per la pulizia, le resine, prodotti chimici	0.001 - 0.350	0.071
<b>fonderia</b>	il metallo in polvere, vapori, refrattari, raccoglitori chimici, ammine, fenoli.	0.004 - 0.900	0.098
<b>metallurgia</b>	polveri di metallo: nichel, ferro, cromo , titanio, altri	0.001 - 60.0	1.05



Diversi processi quindi, quali utilizzo di combustibili fossili, incenerimento di scarti solidi, produzione e smaltimento di batterie nichel-cadmio, estrazione e purificazione del metallo, saldatura, e molti altri, sono responsabili della produzione di aerosol contenenti nichel oltre che nei luoghi di lavoro anche nell'ambiente circostante. A causa del largo utilizzo dei composti del nichel, il rilascio del metallo nell'ambiente rappresenta un potenziale rischio occupazionale e non occupazionale. L'esposizione media giornaliera al nichel per inalazione è stata riportata essere 0.2 e 0.4  $\mu\text{g}$  per abitante rurale e urbano, rispettivamente<sup>98</sup>. L'estrazione e la raffinazione dei minerali di nichel espongono i lavoratori alle polveri dei sali solubili e insolubili come  $\text{NiSO}_4$ ,  $\text{NiS}$ ,  $\text{NiO}$ . I saldatori sono un'altra categoria di lavoratori considerati a rischio da esposizione a polveri contenenti nichel. Recenti studi sui meccanismi molecolari coinvolti nella cancerogenesi del nichel hanno rivelato che non tutti i suoi composti sono ugualmente tossici: i sali acqua-insolubili di  $\text{Ni(II)}$  mostrano una potente attività, mentre quelli solubili ne mostrano una minore. Vi sono diversi modi attraverso i quali il nichel può entrare nelle cellule. I composti nichel-solubili possono essere trasportati all'interno delle cellule attraverso il sistema di trasporto del  $\text{Mg}^{2+}$ , a causa del simile rapporto carica/raggio dei due ioni metallici. Tuttavia, la concentrazione di nichel che dovrebbe essere richiesta per competere effettivamente con il trasporto del  $\text{Mg}^{2+}$  è molto alta ( $\text{mM}$ )<sup>99</sup>. La ragione dell'alta attività dei composti acqua-insolubili è dovuta alla loro capacità di penetrare nelle cellule, attraverso un processo di fagocitosi che rappresenta una maniera molto efficiente per l'accumulo dello ione metallico all'interno delle cellule (figura 2).

**Figura 2** Comportamento dei sali insolubili e non dei composti del nichel di penetrare all'interno della cellula.



Laura Caterina Schinocca  
Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di metalli pesanti  
Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva  
Università degli Studi di Sassari

Cellule epiteliali lungo l'apparato respiratorio sono in grado di fagocitare composti insolubili del nichel e discioglierli nell'ambiente acido dei vacuoli, fornendo una continua sorgente di ioni Ni(II) con conseguenti alti livelli intracellulari. La fusione dei vacuoli con la membrana cellulare può comportare inoltre il trasporto di grandi quantità di nichel all'interno del nucleo cellulare. Il nichel viene assorbito soprattutto attraverso ingestione e inalazione. Recenti studi indicano che la quantità assorbita nella dieta è generalmente molto bassa ed è approssimativamente di 0.15 mg Ni /giorno, quella nell'acqua di 0.001 a 0.01 mg Ni/L e nell'ambiente da 10 a 60 ng Ni/m<sup>3</sup>. L'inalazione è la più importante via d'esposizione al nichel nell'ambiente di lavoro. Deposizione, assorbimento, e ritenzione delle particelle nelle vie respiratorie sono tutti fattori che influiscono sulla quantità di nichel assorbito.

Il nichel è principalmente trasportato nel sangue attraverso il legame con HSA (siero-albumina umana)<sup>100</sup>.

Il tempo di permanenza delle particelle contenenti nichel nel polmone è anch'esso un importante fattore determinante la tossicità. Altre sorgenti di esposizione al nichel includono: contatti con materiali che contengono il metallo come gioielli, applicazioni mediche, tabacco da fumo<sup>101</sup>. Il nichel bivalente è stato trovato penetrare nella pelle velocemente attraverso i dotti sudoriferi e i follicoli dei capelli dove si lega alla cheratina e si accumula nell'epidermide.

Nonostante tutto, l'area superficiale di questi dotti e follicoli è piccola; da ciò, la penetrazione attraverso la pelle è principalmente determinata dalla quantità di nichel e dalla sua capacità a diffondersi tramite lo strato dell'epidermide<sup>102</sup>.

Probabilmente il nichel è assorbito nel tratto gastrointestinale come residuo lipofilico a basso peso molecolare<sup>103</sup>. L'assorbimento di nichel nell'intestino dipende dai vari leganti ed ioni presenti. Per esempio, l'alimento fa diminuire notevolmente l'assorbimento di nichel<sup>104</sup>. I risultati di uno studio in situ di perfusione sui ratti<sup>105</sup> indicano che alle basse concentrazioni ( $\leq 10$  il mg Ni/L), il nichel è assorbito attraverso il trasporto attivo e la diffusione facilitata; alle alte concentrazioni, il nichel è assorbito per diffusione passiva. Questi risultati confermano i dati ottenuti, in uno studio condotto in vitro, che il nichel

attivamente è assorbito in modo attivo durante il digiuno, ma possono attraversare l'ileo tramite la diffusione passiva<sup>106</sup>. Nel plasma, il nichel è trasportato legato all'albumina ed altri leganti ultra-filtrabili, come piccoli polipeptidi ed amminoacidi; per esempio, istidina<sup>107</sup>.

Il nichel si lega all'albumina tramite il gruppo amminico terminale, dei primi due atomi dell'azoto all'N-estremità del peptide, e dell'azoto dell'imidazolico dell'istidina alla terza posizione dall'N-estremità. Il nichel compete con il rame per questo sito nell'albumina.

Nel plasma, il nichel è legato anche alla nichel plasmina, una  $\alpha$ -macroglobulina, ma il nichel legato con la nichel plasmina non è prontamente sostituibile, e questa proteina non sembra svolgere un ruolo nel trasporto del nichel<sup>107</sup>. Benché il nichel ha una debole affinità per DNA, esso ha un'alta affinità per le proteine della cromatina, specialmente istoni e protamine<sup>108-110</sup>. Gli ioni del nichel formano complessi con l'eterocromatina, provocando così un certo numero di alterazioni che comprendono condensazione, ipermetilazione, ed inibizione dell'acetilazione dell'istone. Queste alterazioni disturbano l'espressione di gene<sup>108-111</sup>.

Nella tabella 5 sono riportati i composti del nichel e la loro classificazione come sostanze a presunta o confermata cancerogeneità

**Tabella 5 Classificazione dei composti del nichel cancerogeni**

Specie del Nickel	1996 Proposto TLVs (Carc. Class.)	1998 Finale TLVs (Carc. Class.)
Nichel elementare e Nichel metallico	0.5	1.5 (A5)
Composti Nichel-solubili	0.05 (A4)	0.1 (A4)
Composti Nichel-insolubili	0.1 (A1)	0.2 (A1)
Nichel solfuro	0.05 (A1)	0.1 (A1)
Nichel Solfuro Fumi e Polveri	0.05 (A1)	0.1 (A1)
Nichel Carbonile	0.12 (nessuna)	0.12 [0.05 ppm] (nessuna)

Note: tutti i valori sono mg Ni/m<sup>3</sup> e applicati a frazioni inalabili.

Classificazione delle sostanze cancerogene  
A1 – Confermata sostanza cancerogena per l'uomo A2 - Sospetta sostanza cancerogena per l'uomo A3 - sostanza cancerogena per gli animali A4 – Non classificabile come sostanza cancerogena per l'uomo A5 – Non sospetta come sostanza cancerogena per l'uomo

Il cancro alle vie respiratorie<sup>112</sup> è primariamente associato con esposizione alle forme meno solubili (compreso il solfato di nichel) e a concentrazioni maggiori di 10 mg Ni/m<sup>3</sup>. Il preciso ruolo del nichel solubile come fattore cancerogeno nell'uomo non è certa. Un certo numero di Stati e giurisdizioni hanno stabilito regole relative all'uso, manipolazione ed esposizioni ai composti del nichel negli ambienti di lavoro<sup>113</sup>.

I meccanismi molecolari responsabili della tossicità e cancerogenesi del nichel, sebbene non completamente conosciuti coinvolgono:

- danni promutagenici al DNA, *ossia danni ossidativi alle nucleo-basi*<sup>114,115</sup>;
- effetti epigenetici sulla cromatina; *il nichel interferisce con la struttura della cromatina, compattazione di essa, metilazione, acetilazione e quindi con la trascrizione*<sup>116,117</sup>
- inibizione dei processi di riparazione del DNA; *il nichel interagisce con i repair-enzimi*<sup>118</sup>;
- innalzamento dei livelli intracellulari di Ca<sup>2+</sup> libero<sup>119</sup>.

## 4.4. Rame (Cu)

### 4.4.1. Rame e ambiente, proprietà chimiche, produzione, usi

Il rame è un metallo rossastro, presente in natura nelle rocce, nel suolo, nelle acque, e nel sedimento e, in basse concentrazioni, nell'aria. La concentrazione media sulla crosta terrestre è circa 50 (ppm). Ha un peso atomico di 63,54, un numero atomico di 29 e una densità di 8,9, fonde a 1083,4°C e bolle a 2595°C. È un metallo duttile e malleabile. L'elemento è relativamente diffuso in natura, spesso combinato con altri metalli (piombo), ma si ritrova anche allo stato elementare. È presente nei minerali quali solfato misto di rame e ferro (calcopirite e bornite,  $\text{CuFeS}_2$  e  $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$ ), carbonato basico (azzurrite,  $\text{Cu}_2(\text{CO}_3)_2 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$ ), carbonato (malachite,  $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$ ), silicato (crisocolle), ossido (cuprite,  $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Gli stati di ossidazione in cui generalmente si trova sono Cu (I) e Cu (II) e i cambiamenti tra uno stato e l'altro sono reversibili. È un elemento essenziale, a bassi livelli di concentrazione, per tutti gli organismi viventi, compreso gli esseri umani. Ai livelli molto elevati può portare ad effetti tossici. Il rame metallico può essere facilmente modellato e lavorato, e proprio per le sue proprietà è utilizzato con altri metalli per formare leghe, come ottone e bronzo<sup>120</sup>. Il composto di rame più comunemente usato è solfato di rame. I composti cuprici sono comunemente usati nell'agricoltura per il trattamento delle malattie delle piante delle muffe, per il trattamento delle acque, ed anche come agente di protezione di legno, cuoio e tessuti. Il rame è liberato nell'ambiente con estrazione mineraria e quella di altri metalli, dalle fabbriche che preparano o usano i composti cuprici, attraverso i depositi residui, acque di scarto per uso domestico, combustione dei combustibili fossili e detriti, lavorazione del legno, produzione del fertilizzante a base di fosfato e da fonti naturali (per esempio, dai terreni, dai vulcani, dalla vegetazione in decomposizione, dagli incendi forestali). Di conseguenza, il rame è diffuso nell'ambiente. Quando il rame è immesso nel terreno, si lega fortemente con le sostanze organiche presenti, e ad altri componenti (per esempio, argilla, sabbia, ecc.). Molti studi indicano che la concentrazione del rame nell'acqua di mare è compresa tra 1 e 5 µg/l; nell'acqua potabile, da pochi µg/l a circa 1 mg/l, dipendono dalla natura dell'acqua stessa, ovvero dalla durezza e dal pH. Comunque, dai valori a disposizione, si può affermare che l'acqua contribuisce

sensibilmente alla assunzione giornaliera di rame con la dieta. Livelli da 10-570 ng/m<sup>3</sup> sono stati osservati nell'aria, con picchi più elevati nelle aree urbane<sup>121</sup>.

#### 4.4.2. Effetti sull'organismo, azione cancerogena

Il rame è un nutriente essenziale ed è incluso in un certo numero di metallo-enzimi coinvolti nella formazione dell'emoglobina, metabolismo dei carboidrati, biosintesi delle catecolamine, elastina, e nei meccanismi di difesa antiossidanti<sup>122</sup>.

Nella tabella 6 sono riportati gli enzimi contenenti rame e le loro funzioni

**Tabella 6 Enzimi contenenti rame e le loro funzioni**

enzimi contenenti rame		funzioni
<b>aminossidasi</b>		
	monoamino ossidasi	intervengono nell'inattivazione delle catecolamine e nel catabolismo di seratonina, dopamina ecc
	diamino ossidasi	inattivano l'istamina a livello intestinale e durante le reazioni allergiche
<b>ferrossidasi</b>		
	Ceruloplasmina ( ferrossidasi I)	glicoproteina di deposito. Catalizzano l'ossidazione del ferro, favorendone il legame alla transferrina. Ossidano anche i fenoli e le ammine aromatiche
<b>citocromo C ossidasi</b>		intervengono nella catena di trasporto degli elettroni ridando l'ossigeno ad acqua e ATP.
<b>superossido dismutasi</b>	superossido dismutasi extracellulare (EC-SOD)	convertono il radicale superossido (O <sub>2</sub> ) in acqua ossigenata (che verrà degradata dalla catalasi). Sono presenti nei polmoni, tiroide, nell'utero.
	Cu/Zn superossido dismutasi (SOD)	convertono il radicale superossido (O <sub>2</sub> ) in acqua ossigenata all'interno della cellula. Si ritrovano nel cervello, tiroide, fegato, eritrociti

I sintomi associati con la deficienza di rame negli uomini includono anemia ipocromica, leucopenia, ed osteoporosi al contrario raramente è osservata nella popolazione più industrializzata.

Il suo assorbimento è normalmente regolato da meccanismi omeostatici; infatti, attraverso il cibo, assorbiamo circa il 50% del rame ingerito, valutato in 2 mg/giorno. La sua emivita biologica in un individuo sano è di circa quattro

settimane. L'esposizione al rame è molto comune nell'industria metallurgica, ma non è stato documentato nessun effetto cronico dovuto ad esposizione.

Una volta assorbito, si lega inizialmente all'albumina e parzialmente agli aminoacidi presenti nel plasma. L'equilibrio che si crea tra la frazione legata all'albumina nel sangue e la frazione nei tessuti è molto rapido; dall'albumina, la maggior parte del rame viene trasportata nel fegato, dove un eccesso determina uno stato patologico conosciuto come malattia di Wilson<sup>123</sup>. Una minore quantità di rame si accumula nel midollo, nel cervello, nel cuore, nei reni e nei muscoli.

Il rame è principalmente assorbito dallo stomaco e dall'intestino. Raggiunto l'apporto nutrizionale necessario, esistono diversi meccanismi che impediscono il suo accumulo. L'eccesso di rame assorbito nel tratto gastrointestinale dalle cellule dalla mucosa inducono la sintesi della proteina metallothioneina a cui si lega il metallo. La quota libera e non legata alla metallothioneina, è trasportata nel fegato; lì viene immagazzinata ed induce la produzione di MT a cui si lega, dove il complesso Cu-MT viene rilasciato nella bile ed escreto nelle feci.

Benchè l'omeostasi del rame giochi un ruolo importante nel prevenire la tossicità del metallo, livelli eccessivi di rame possono portare ad un elevato numero di effetti dannosi, sia al fegato che ai reni, anemia, immunotossicità, e sviluppo di tossicità. Molti di questi effetti comportano stress ossidativo alle membrane e macromolecole.

Il rame legato ai gruppi sulfidrilici di diversi enzimi, come il glucosio-6- fosfatasi e il glutatione redutasi, interferiscono con il meccanismo di protezione delle cellule dai radicali liberi. Uno dei più comuni effetti del rame è disturbi intestinale.

Il rame è anche irritante per il tratto respiratorio, starnuti, fibrosi polmonari, ed un incremento della vascolarità della mucosa nasale è stata osservata nei lavoratori esposti alle sue polveri.

Il fegato è l'organo bersaglio della tossicità. Il danno al fegato (necrosi, fibrosi) sono stati riportati in individui che hanno ingerito dosi letali di solfato di rame.

Altri effetti a danno del fegato sono stati osservati in pazienti con la sindrome Wilson, cirrosi negli adolescenti indiani, cirrosi infantile di Tyrollean. Queste sindromi sono disordini genetici che risultano in un accumulo di rame nel fegato; le ultime due sindromi sono associate con l'eccessiva esposizione al rame.

Il danno ai tubuli prossimali del rene è stato osservato nelle cavie di laboratorio. Le conseguenze sia al rene e al fegato si presentano solitamente agli stessi livelli di dose; tuttavia, il periodo latenza per le lesioni al rene è più lungo che per gli effetti del fegato. Studi sugli animali hanno dimostrato che l'esposizione al rame alti livelli dispersi nell'aria o di rame in acqua potabile possa danneggiare il sistema immunitario. La carcinogenicità del rame non è stata adeguatamente documentata<sup>122</sup>.

Un aumento del rischio è stato attribuito all'esposizione concomitante all'arsenico.

Nella tabella 7 sono riportati i valori limite raccomandati per la salute popolazione

**Tabella 7 Valori limiti raccomandati per la popolazione.**

<b>EPA</b>	Water	1,3 mg/l
<b>OSHA the Occupational Safety and Health Administration</b>	fumi ( vapori generati dal riscaldamento del rame)	0,1 mg/m <sup>3</sup>
	polveri di rame ( particelle di rame metallico) o aerosol di rame solubile nei luoghi di lavoro nelle 8 h lavorative	10 mg/m <sup>3</sup>
<b>The Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine Food and Drug Administration (FDA)</b>	RDAs	
	1-3 aa	340 µg/ die
	4-8 aa	440 µg / die
	9-13aa	700 µg / die
	14-18aa	890 µg/ die
	adulto	900µg/ die

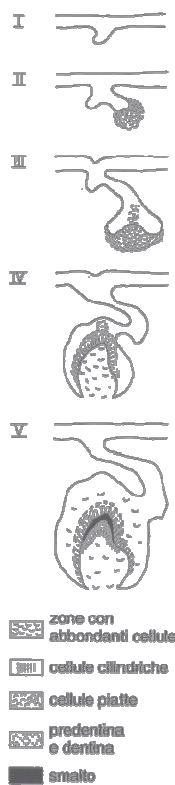


## 5. Denti

### 5.1 Formazione e sviluppo degli elementi dentali

L'odontogenesi è il processo di formazione e sviluppo degli elementi dentali. Nonostante l'eruzione dei denti inizi tipicamente verso il terzo mese di vita, per concludersi entro i 20 anni, gli elementi dentali iniziano a formarsi dopo solo un mese di vita embrionale. Nell'embrione si forma precocemente la cavità buccale primitiva, detta stomodeo, sulla quale si forma la lamina dentale, un ispessimento dell'epitelio di rivestimento, di origine ectodermica, che si approfonda nel mesenchima sottostante in corrispondenza di ogni futuro alveolo. La lamina dentale si dispone con una forma arcuata, seguendo la forma delle future ossa mascellari. Pertanto avremo due lamine dentali primarie: una superiore ed una inferiore. Da ognuna di esse si svilupperanno 10 denti decidui (da latte). I denti permanenti si sviluppano con processi analoghi ai decidui, ma più tardivamente (a partire dalla diciassettesima settimana), con gemme dentali che si dispongono posteriormente a quelle dei decidui su una lamina dentale secondaria, che origina dalla primaria. La mancata formazione della lamina provoca l'anodontia (mancanza di tutti i denti). Ispessimenti anomali della lamina provocano la formazione di denti sovranumerari. Interruzioni nella lamina provocano agenesia (mancanza di uno o più elementi dentali). Considerando che la lamina secondaria, da cui si formano i denti permanenti, origina dalla primaria, l'agenesia di un dente deciduo comporterà l'assenza del rispettivo permanente. Durante l'ottava settimana di sviluppo embrionale, nella lamina si formano dei peduncoli ancorati al mesoderma, che terminano con un bottone epiteliale chiamato gemma dentale. Intorno all'undicesima settimana il bottone epiteliale della gemma si introflette, generando una cavità che viene riempita da un addensamento di cellule mesodermiche. L'epitelio, introflettendosi, assume una forma simile ad una campana, che conferisce il nome a questo stadio(fig.3). La campana rimane comunque connessa alla lamina tramite il peduncolo<sup>124</sup>. L'epitelio della campana si differenzia in tre strati:

epitelio esterno: tessuto di cellule epiteliali cubiche in diretta continuità, tramite il peduncolo, con la lamina dentale; reticolo stellato: tessuto formato da sporadiche cellule stellate, immerse in un abbondante sostanza intercellulare, interconnesse mediante lunghe propaggini citoplasmatiche; epitelio interno: tessuto di cellule ectodermiche disposte a palizzata. Inoltre, tra l'epitelio interno e il reticolo



**Figura 3**  
Formazione del dente

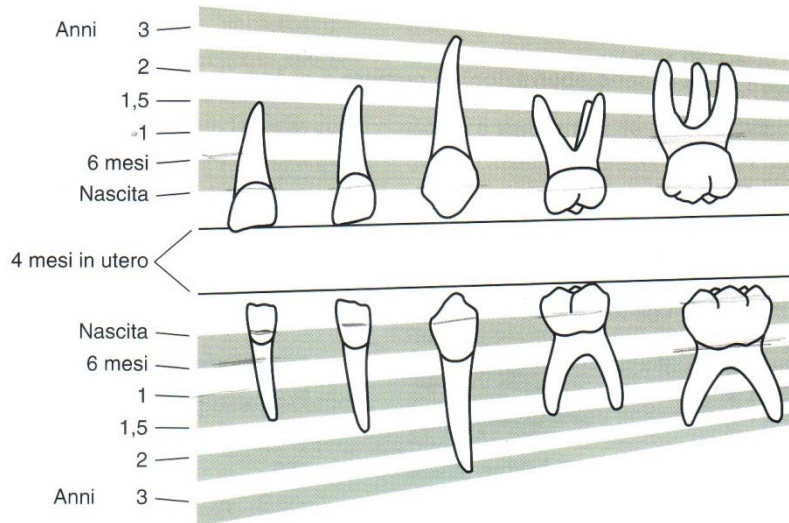
stellato, si sviluppa una strato intermedio di cellule appiattite.

Con la differenziazione i tessuti ectodermici e mesodermici degli abbozzi dentali, maturano e si trasformano in smalto, dentina e polpa. La concavità dell'organo dello smalto (stadio a campana) resta riempita di cellule mesenchimali, che costituiscono la papilla dentale. Le cellule dell'organo dello smalto a contatto con la papilla, stimolano il differenziamento del tessuto mesenchimale della papilla in odontoblasti (cellule capaci di produrre la dentina mediante il processo di dentinogenesi). Le cellule dell'epitelio interno dello smalto si differenziano in ameloblasti (cellule capaci di produrre lo smalto mediante il processo di amelogenesi) sotto lo stimolo degli odontoblasti, mentre il reticolo stellato e lo strato intermedio di cellule appiattite hanno una funzione trofica, di stimolazione, nei confronti dell'epitelio interno medesimo. L'epitelio esterno ha invece una funzione protettiva nei

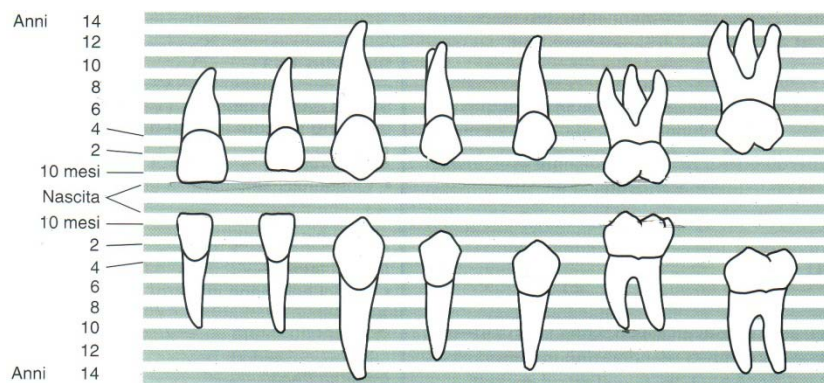
confronti dell'intero organo dello smalto.

Le gemme dei denti si accrescono nella mascella e nella mandibola durante il periodo prenatale. La mineralizzazione dei denti incisivi decidui ha inizio sul margine incisivo. Il dente si sviluppa fino a raggiungere la sua lunghezza completa prima che cominci la sua crescita in altezza. Nei denti con due o più cuspidi l'ossificazione ha inizio all'apice della cuspidi e la mineralizzazione si estende a partire da questo livello fino a raggiungere le dimensioni proprie della polpa della corona dentale attraverso la proliferazione di tessuto tra le cuspidi. Un alterato sviluppo dei denti interessa raramente la dentizione decidua e molto più quella permanente. Questi fenomeni sono in genere dovuti a fattori ereditari o alla presenza di *noxae patogene* che intervengono durante gli stadi di formazione, sviluppo e maturazione degli elementi e che quindi interferiscono con la normale crescita. Potremo quindi avere anomalie di numero, di forma e dimensione, di posizione e eruzione dei denti ed infine di struttura dei tessuti duri<sup>125</sup>.

L'epoche di mineralizzazione dei denti decidui, che inizia durante la vita intrauterina, e quelle dei permanenti che inizia nel periodo perinatale sono riassunte nelle figure 4,5.



**Figura 4 Cronologia della mineralizzazione dei denti decidui**



**Figura 5 Cronologia della mineralizzazione dei denti permanenti**

## 5.2. Caratteristiche strutturali di dentina, smalto, cemento

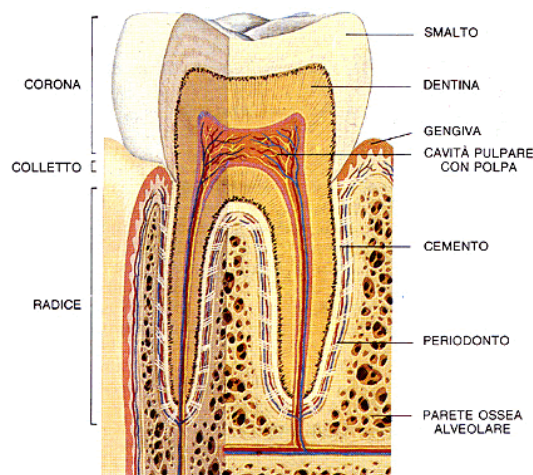


Figura 6 Sezione di un dente

Il tessuto dentale mineralizzato include lo smalto, dentina, cemento<sup>126</sup>.

Lo smalto, di natura epiteliale, è il tessuto più duro e calcificato di tutto l'organismo.

Avvolge ininterrottamente la corona dentaria con uno spessore massimo in corrispondenza delle cuspidi, e minimo al colletto. E' formato per il 96-97% da materiale inorganico rappresentato dai cristalli di idrossiapatite assemblati a formare unità elementari: i prismi dello smalto. I prismi hanno forma poligonale con un diametro medio di 2-6  $\mu\text{m}$ , si estendono dallo strato più superficiale della dentina alla superficie esterna della corona in senso radiale e sono uniti fra loro da una sostanza cementante interprismatica ricca di sostanze organiche.

Lo smalto è ricoperto in periferia da una cuticola detta membrana di Nasmyth che ha uno spessore di 1  $\mu\text{m}$  ed è costituita da una parte inorganica e da albumine. Sembra rappresenti l'ultimo prodotto di secrezione degli ameloblasti e pare abbia una funzione di protezione nei confronti della corona, visto che è più resistente dei prismi dello smalto all'azione di sostanze acide<sup>127</sup>.

Lo smalto dentale umano è composto da una sequenza di strati calcificati che si formano durante lo sviluppo, e quindi possono fornire informazioni circa i

cambiamenti a cui il dente è stato esposto, come ad esempio modificazioni nutrizionali.

Lo smalto è essenzialmente costituito da materiale inorganico e mineralizzato che copre la parte superiore del dente. La matrice inorganica dello smalto è composta da idrossiapatite. Il contenuto di calcio nello smalto è compreso nel range di 34-39% (p/p); il contenuto organico è abbastanza piccolo circa 1% in peso e molto denso, con una densità media di  $3.0 \text{ gcm}^{-3}$  <sup>128,129</sup>.

Nelle figure qui di seguito (fig 5,6,7)<sup>130</sup> sono rappresentate le strutture dello smalto, costituito da prismi che si estendono dalla superficie esterna a quella interna; ogni prisma è formato da cristalli di idrossiapatite, che hanno una sezione esagonale e sono ben addensati e allineati tra loro.

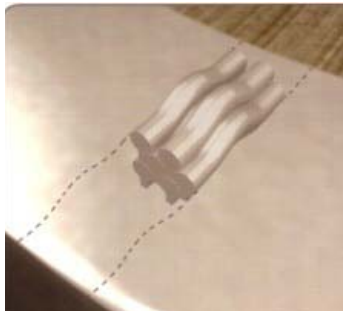
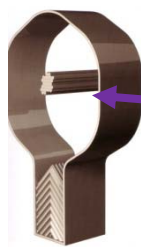


Figura 7 Fascio di prismi dello smalto



Figura 8 Cristalli di idrossiapatite



Prisma dello smalto incompleto

Figura 9 prisma dello smalto

La dentina costituisce la parte principale e volumetrica del dente ed è presente sia nella corona che nella radice. Delimita perifericamente la cavità pulpare, per cui la polpa contrae con essa stretti rapporti, assicurando un metabolismo dentinale in stretto rapporto con il metabolismo pulpare<sup>131</sup>.

La dentina è formata dal 70% di idrossiapatite, dal 18% di materiale organico e dal 12% di acqua. A differenza dello smalto, l'idrossiapatite che costituisce la

dentina si presenta disposta irregolarmente in una matrice organica costituita prevalentemente da fibre collagene. Risulta inoltre attraversata da canalicoli: i tubuli dentinali il cui numero e diametro varia sia in funzione della distanza dalla polpa, sia nelle varie regioni del dente. Nella dentina coronale, ad 1 mm dalla polpa, il numero dei tubuli presenti è circa 40.000-43.000 per mm<sup>2</sup> ed arriva a 80.000 circa per mm<sup>2</sup> a livello cervicale<sup>132</sup>.

I tubuli dentinali contengono i processi cellulari degli odontoblasti e il fluido dentinale, di origine pulpare<sup>133</sup>.

La dentina è un substrato dinamico<sup>134</sup> in quanto strettamente connessa con la polpa, per cui un flusso continuo di fluidi scorre ad una pressione di 25-30 mm di Hg dalla polpa verso la giunzione amelodentinale attraverso i tubuli<sup>135</sup>.

La dentina è formata da piccole quantità di cristalli di apatite e tende ad essere meno densa dello smalto. E' più ricca di contenuto organico (22% p/p) rispetto al tessuto dello smalto e contiene circa 10% di acqua<sup>126</sup>.

Il cemento è uno strato sottile di tessuto calcificato che collega, tramite il legamento parodontale, il dente all'alveolo. Si tratta di un tessuto calcificato specializzato, che riveste le radici dei denti. Si differenzia dal tessuto osseo per non avere vasi sanguigni, linfa e nervi, per non riassorbirsi fisiologicamente e per non rimodellarsi. Può tuttavia depositarsi continuamente nel corso della vita e intervenire in caso di processi riparativi per danni a carico delle radici.

Si possono distinguere due tipi di cemento: un cemento primario o acellulare, che si forma con la radice, con l'eruzione de dente; un cemento secondario o cellulare che si forma dopo l'eruzione del dente ed e che si trova nella porzione apicale nella radice. Il tessuto nella cavità pulpare è biologicamente attivo, in quanto contiene il nervo ed tessuti sanguigni, che facilitano le comunicazione fra il tessuto dentale ed il resto del corpo ed ottengono le sostanze nutrienti da il corpo<sup>126,136</sup>.

Nella tabella 8 sono stati riportati i costituenti minerali dei tessuti duri

Tabella 8 Costituzione minerale dei tessuti duri (% p/p)<sup>137</sup>

Elemento	Tessuto Dentale			
	Smalto	Dentina	Cemento	Ossa
Calcio	36,1	35	35,5	26,7
Fosforo ( espresso come $PO_4^{3-}$ )	17,3	17,1	17,1	12,47
$CO_2$ ( espresso come $CO_3^{2-}$ )	3	4	4,4	3,58
Mg	0,5	1,2	0,9	0,436
Na	0,2	0,2	1,1	0,731
K	0,3	0,07	0,1	0,055
Cl	0,3	0,03	0,1	0,08
F	0,016	0,017	0,015	0,07
S	0,1	0,2	0,6	-
Cu	0,01	-	-	-
Si	0,003	-	0,04	-
Fe	0,0025	-	0,09	-
Zn	0,016	0,018	-	-

Nel grafico 4 sono riportati i costituenti principali della parte dura del dente, che è composta da tre differenti tessuti calcificati: dentina, smalto, cemento

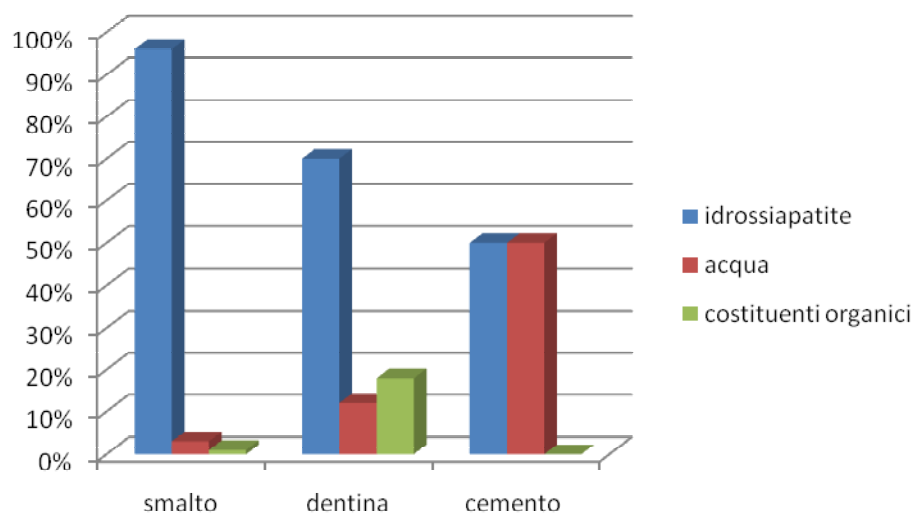


grafico 4

Il cemento, che assieme alle fibre parodontali costituisce il vero e proprio apparato di attacco del dente all'osso alveolare, è un tessuto mesenchimale calcificato che ricopre la superficie radicolare dei denti, nel quale si inseriscono le fibre parodontali. La giunzione amelo-cementizia decorre con andamento festonato come il margine gengivale. A livello della giunzione smalto-cemento nel 65% dei denti il cemento si sovrappone leggermente allo smalto; nel 25% dei casi smalto e cemento si giustappongono e nel 10% dei casi i due tessuti lasciano scoperta una piccola area di dentina sottostante. Il cemento è costituito per circa il 54% da una componente organica (collagene sostanza fondamentale) e per circa il 46% da una inorganica (idrossiapatite cristallina). La sua superficie, se privata delle fibre parodontali, si mostra al microscopio elettronico ricoperta da tante emisfere sovrapposte che corrispondono all'inserzione delle fibre di Sharpey.

Il cemento viene distinto in cemento acellulare (primario), cemento cellulare (secondario) e cemento afibrillare<sup>138</sup>. Il cemento acellulare o primario si forma con la radice, all'atto dell'eruzione, e la riveste completamente; è formato da cementoblasti che si mantengono alla periferia della sostanza calcificata.

Il cemento cellulare o secondario si forma, dopo l'eruzione del dente, al di sopra di quello primario, in risposta alle esigenze funzionali. Esso ricopre prevalentemente il terzo apicale e le biforcazioni ed è formato da cementoblasti che vi restano inglobati assumendo l'aspetto di cementociti. Il cemento afibrillare, così denominato perché contiene collagene non fibrillare, è presente nel 65% degli elementi dentari a ricoprire lo smalto cervicale. Il cemento, come l'osso alveolare, è attraversato fino alla giunzione cemento-dentinale dalle fibre collagene del legamento parodontale le quali, nella struttura cementizia, assumono l'aspetto di fibre di Sharpey calcificate formanti il sistema delle fibre estrinseche che attraversano il cemento obliquamente.

Le fibre intrinseche invece, prodotte dai cementoblasti, sono parallele all'asse lungo del dente e si incrociano con le prime. Il cemento non va incontro come l'osso a processi di riassorbimento e neoapposizione, ma è caratterizzato da una deposizione continua nel corso degli anni che ne aumenta lo spessore<sup>131,138</sup> della fase organica importante (18% collagene - 12% acqua) che ne diminuisce l'energia superficiale<sup>127</sup>.



I denti sono importanti indicatori biologici perché possono fornire informazioni sullo stato di salute e sviluppo di un individuo, nutrizione, esposizione alla malattia, inquinamento ambientale.

Diversamente dalle ossa, i denti tendono ad essere più resistenti al cambiamento o al riassorbimento. Il principale componente inorganico dei tessuti duri (ossa e denti) è il fosfato di calcio cristallo, l'idrossiapatite (OHAp) con la formula molecolare (fig. 8):

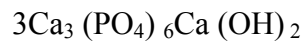
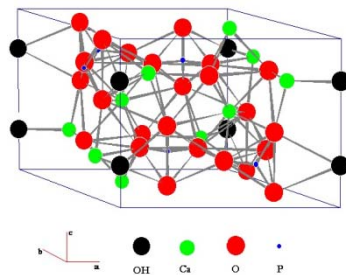


Figura 10 Struttura dell'idrossiapatite<sup>140</sup>



I gruppi dell'OH nella struttura dell'apatite possono essere sostituiti dagli ioni del cloruro o di fluoruro, formando il fluorapatite (FAP) o il clorapatite, che sono sostanze meno solubili del OHAp<sup>11</sup>. Come accade per le ossa, il calcio può essere parzialmente sostituito, come conseguenza di reazioni biochimiche, da piccole quantità di stronzio, di bario, di piombo e di alcuni elementi delle terre rare, mentre il fosfato è sostituito da solfato, carbonato, citrato, vanadiato o arseniato<sup>12</sup>. Queste proprietà implicano che l'apatite formi una famiglia di composti simili, ma con configurazioni caratteristiche, proprietà fisico-chimiche differenti e probabilmente, caratteristiche biologiche distinte<sup>13-15</sup>.

Come dichiarato da Losee ed altri, nel 1974, un minimo di 41 elementi, con numero atomico sotto il 60 (Nd), sono presenti nello smalto durante la formazione dei denti<sup>128,138</sup>.

Dunque, durante lo sviluppo dei denti, altri elementi, come sodio, potassio, magnesio, rame, zinco, ferro, stagno, molibdeno, cadmio, piombo, ecc., possono essere incorporati nella struttura dei denti, alcuni con effetti benefici (Cu, Zn, Sr, ecc.), mentre altri, come per esempio il Pb, nocivi. La concentrazione di questi elementi nei denti varia in funzione delle differenti aree geografiche, e quindi può indicarci che l'assorbimento di questi metalli possa essere dovuto o alla dieta o all'esposizione ambientale. Oltre al calcio, che è il componente principale della matrice dentale, altri elementi, come i metalli alcalini terrosi, magnesio e stronzio, data la loro rassomiglianza chimica con il calcio, sono ritrovati in piccole concentrazioni nel dente e possono anche loro avere funzioni biochimiche nel tessuto dentale<sup>140</sup>.

I denti pertanto sono particolarmente importanti per l'identificazione dell'esposizione ad alcuni metalli, e pertanto possono essere considerati ottimi indicatori biologici.

## **6. Scopo della ricerca**

Scopo del presente studio è:

- ✓ la determinazione della concentrazione di metalli pesanti (rame, nichel, piombo e cadmio) nei denti umani attraverso l'analisi con lo spettrometro di assorbimento atomico con fornetto di grafite
- ✓ eventuale correlazione tra i diversi metalli
- ✓ eventuale correlazione tra la concentrazione dei metalli pesanti e l'inquinamento ambientale

## **7. Materiali e metodi**

### **7.1. Questionario e campionamento, metodica, preparazione del campione per l'analisi**

Per la nostra indagine sono stati analizzati 79 elementi caries free e privi di otturazioni, 40 della città Sassari, 26 di Porto Torres e 13 di Ottana. I campioni sono stati raccolti grazie alla collaborazione degli odontoiatri presenti nel territorio. E' stata chiesta la collaborazione sia del paziente che dell'odontoiatra nella compilazione di un questionario in cui venivano indicati, oltre i dati anagrafici, il titolo di studio, la residenza, la professione, e anche il tipo di alimentazione, l'acqua utilizzata (sorgente, pozzo, condotta idrica, imbottigliata) se fossero fumatori e l'eventuale uso di farmaci (schema 2). All'odontoiatra era richiesta la compilazione di un modulo riguardante le condizioni generali di salute del paziente, e in particolare del cavo orale, la posizione del dente nella bocca (mascella superiore o inferiore), la presenza di carie, di amalgama nei denti vicino al dente da esaminare.



Ogni dente estratto è stato lavato con acqua e con l'ausilio di uno spazzolino da denti, sono state rimosse eventuali tracce di sangue e saliva, gli elementi così trattati sono stati conservati in provetta con  $H_2O_2$  al 2%.

Per favorire il completo allontanamento dei tessuti organici aderenti alla superficie, ogni campione è stato immerso in una soluzione acidulata di perossido di idrogeno al  $H_2O_2$  al 30% (2 ml di acqua acidulata con  $HNO_3$  al 2% e 5ml di  $H_2O_2$  al 30%) per circa 24 ore. La procedura, è stata ripetuta per 2 volte per favorire il distacco delle sostanze organiche, e lasciati in soluzione per 5 ore. I denti sono stati risciacquati con acqua milliQ (ultrapura), ed asciugati.

Sono stati pesati e posti in becker da 10 ml contenenti  $HNO_3$  concentrato al 65% ultra puro per la digestione del dente, processo che ha richiesto circa 48 ore. Alla soluzione sono state aggiunte alcune gocce di  $H_2O_2$  al 30% per evitare la formazione di ossidi nitrosi e completare la distruzione della sostanza organica. La soluzione viene quindi scaldata fino alla formazione delle prime bollicine. Si è proceduto ad una doppia estrazione con solvente organico, metilisobutilchetone (MIBK), e come agente chelante l'Ammonio Pirrolidinditiocarbammato (APDC), e poi estrazione di ritorno in ambiente acido con  $HNO_3$  5M superpuro.

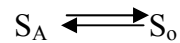
Tale metodica favorisce l'estrazione dei metalli pesanti che sono così presenti nella soluzione acida, in tal modo si evita, durante l'analisi strumentale, l'interferenza del segnale per la presenza del fosfato di calcio.

## **7.2. Metodologia per l'analisi dei metalli pesanti**

Per la determinazione quantitativa dei livelli di Piombo, Cadmio, Nichel, Rame, presenti nei denti campionati, residenti nei Comuni di Sassari, Porto Torres e Ottana, è stato utilizzata come metodica l'estrazione con il solvente.

L'estrazione con solventi (liquidi di ripartizione) consiste nel trasferimento quantitativo di una sostanza da una fase liquida (soluzione acquosa contenente la sostanza da estrarre) ad un'altra (solvente organico: etere, benzene, ecc), immiscibili tra loro, al fine di eseguire una separazione ( o una pre-concentrazione).

L'operazione si effettua in un imbuto separatore. Sia data una sostanza  $S_A$  contenuta in una soluzione acquosa di concentrazione  $C_T$ ; si aggiunga a tale soluzione un solvente organico:



$[S]_A$  = concentrazione della sostanza S nella fase acquosa ( Fase A);

$[S]_o$  = concentrazione della sostanza S nella fase organica (Fase O);

si definisce il coefficiente o rapporto di distribuzione o di ripartizione  $K_D$  :

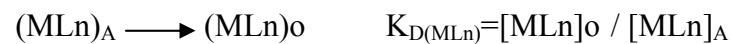
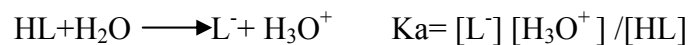
$$K_D = [S]_o / [S]_A$$

Si dimostra che l'estrazione è più efficace utilizzando volumi piccoli di solvente ed aumentando il numero di estrazioni.

Estrazione di cationi metallici

Numerosi metalli formano complessi con particolari leganti, formando dei composti (neutri) estraibili in solventi organici.

Considerando un generico legante (acido debole) HL, che complessa un metallo M, si hanno i seguenti equilibri:



L'estrazione di uno ione metallico dipende dal pH, dalla costante di complessazione, dalla costante acida del legante e dalla concentrazione del legante. Scegliendo opportunamente queste variabili è possibile effettuare della separazioni<sup>141</sup>.

### 7.3. Tecnica di spettroscopia di assorbimento atomico (AAS)

Nell'ambito di questa ricerca è stato utilizzato uno spettrometro Perkin-Elmer B110 con fornello di grafite. La scelta di questo tipo di strumento è stata dettata dal limite di rilevabilità rispetto ad altre tecniche strumentali (vedi tabella 9), la sensibilità dello strumento, e la minima quantità di campione da utilizzare<sup>142</sup>.

Tabella 9

Element	ICP-MS	ICP-AES	Flame AAS	GFAAS
As	<0.050	<20	<500	<1
Al	<0.010	<3	<50	<0.5
Ba	<0.005	<0.2	<50	<1.5
Be	<0.050	<0.5	<5	<0.05
Bi	<0.005	<20	<100	<1
Cd	<0.010	<3	<5	<0.03
Ce	<0.005	<15	<200000	ND
Co	<0.005	<10	<10	<0.5
Cr	<0.005	<10	<10	<0.15
Cu	<0.010	<5	<5	<0.5
Gd	<0.005	<5	<4000	ND
Hf	<0.005	<1	<80	ND
In	<0.010	<30	<80	<0.5
La	<0.005	<0.05	<4000	ND
Li	<0.020	<1	<5	<0.5
Mn	<0.005	<0.5	<5	<0.06
Ni	<0.005	<10	<20	<0.5
Pb	<0.005	<20	<20	<0.5
Se	<0.10	<50	<1000	<1.0
Tl	<0.010	<30	<40	<1.5
U	<0.010	<30	<100000	ND
Y	<0.005	<0.5	<500	ND
Zn	<0.02	<1.0	<2	<0.01

ICP-MS, ICP-AES, Flame AAS: Detection limits (defined on the basis of 3 standard deviations of the blank)  
GFAAS: Sensitivity (0.0044 absorbance) measured with 20 µL of sample  
ND: Not determined

La concentrazione di metalli è stata determinata con un assorbimento atomico con fornello di grafite Perkin-Elmer HGA 400. Sono stati determinati: Pb a 283,3 nm, Cu a 324,8 nm, Cd 228,8nm con il fornello di grafite, Ni 232nm con fornello pirolizzato, che atomizza il campione in modo omogeneo.

Sono state eseguite almeno tre analisi per ciascun campione. Le curve di calibrazione per ciascun metallo, sono state ottenute utilizzando standards a diverse diluizioni. Anche in questo caso sono state effettuate 3 misurazioni, e ripetute dopo ogni 10 campioni. Lo stesso procedimento è stato utilizzato per il bianco.

Questa tecnica è la più utilizzata nella chimica analitica per la determinazione quali-quantitativa di specie inorganiche; è basata sull'esame dell'assorbimento di una radiazione elettromagnetica dopo che questa passa in un mezzo in cui il campione sia presente come atomi o ioni monoatomici.

Quando un atomo viene posto nelle condizioni di acquistare energia elettromagnetica di intensità adeguata, uno o più elettroni esterni possono infatti



abbandonare gli orbitali in cui abitualmente si trovano, per venire promossi ad orbitali più ricchi di energia.

Di conseguenza l'atomo, che si trovava nella sua configurazione elettronica normale (o *stato energetico fondamentale*) raggiunge un livello energetico più ricco di energia e quindi meno stabile (*stato eccitato*).

Da questo stato eccitato l'atomo decade rapidamente, tornando allo stato fondamentale e restituendo all'ambiente l'energia appena acquistata.

Questo processo di decadimento energetico, che consiste nel ritorno degli elettroni eccitati agli orbitali primitivi, avviene prevalentemente per via termica, nel senso che l'energia accumulata viene dispersa mediante urti con particelle che si trovano nelle vicinanze degli elettroni eccitati: questo è dunque un meccanismo di rilassamento non radiante (*quenching*).

Dato che ogni atomo dispone di un numero suo proprio di elettroni, situati su determinati orbitali, è possibile spettri di assorbimento atomico caratteristici, costituiti da una serie di righe, dette *righe di risonanza*, la cui intensità è proporzionale alla probabilità della transizione elettronica corrispondente. Il termine riga di risonanza sta ad indicare in generale tutte le transizioni che partono dal livello fondamentale.

#### **7.4.1. Relazione tra assorbimento atomico e concentrazione**

Per determinare la quantità di un elemento si può atomizzare il campione in cui è contenuto, eccitare i suoi atomi con radiazioni di opportuna lunghezza d'onda e misurare l'entità della radiazione assorbita (più precisamente, *flusso radiale*).

Alle normali temperature di esercizio (che sono relativamente basse) la maggior parte degli atomi si trova nello stato fondamentale e una parte, sia pur minima, può trovarsi uno stato termicamente eccitato; questi atomi, perciò, non partecipano al processo di assorbimento che si intende misurare.

L'assorbimento, che dipende dal numero di atomi nello stato fondamentale, è direttamente proporzionale all'intera popolazione di atomi presenti sul cammino ottico della radiazione e quindi alla concentrazione dell'elemento nel campione (se l'atomizzazione viene ottenuto con una fiamma) oppure alla quantità dell'elemento (se l'atomizzazione viene ottenuta con sistemi senza fiamma). In queste condizioni l'assorbimento atomico sia pure in un intervallo di linearità

abbastanza ristretto segue una legge analoga alla legge di Beer, descritta per l'assorbimento molecolare. Per un generico elemento eccitato da una radiazione monocromatica i cui atomi siano dispersi in fase gassosa abbiamo che:

$$A = b \cdot x \cdot N$$

Dove:

$x$  è il coefficiente spettrale di assorbimento atomico

$b$  lo spessore dello strato assorbente (il cammino ottico)

$N$  il numero totale di atomi liberi

Ovviamente:

$$A = \log I_0/I$$

$I_0$  radiazione entrante

$I$  radiazione uscente

Nella spettrometria AAS, l'intervallo utile di lunghezze d'onda dipende dalla sorgente della radiazione, dai componenti del cammino ottico e dal rivelatore.

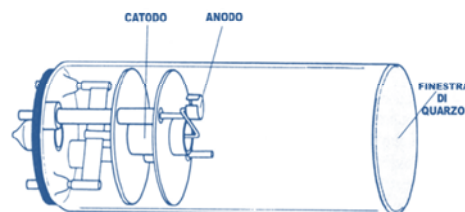
In pratica il campo spettrale va da 852,1 nm, la lunghezza d'onda più sensibile per il cesio, a 193,7 nm, la lunghezza d'onda più usata per l'arsenico: lo spettrometro per AAS opera perciò nel campo spettrale degli spettrofotometri UV-vis.

#### 7.4.2. Sorgente: lampade a catodo cavo (HLC)

Esse contengono un catodo cavo, generalmente cilindrico, composto dallo stesso elemento da analizzare, o da una sua lega (fig.9). L'anodo è in genere di tungsteno o nichel.

Il cilindro di vetro porta una finestra di quarzo trasparente, ed è riempito con un gas inerte (neon o argon) a una pressione di 1 kPa.

Figura 11. Lampada a catodo cavo



Il meccanismo di funzionamento è semplice.

Se si applica agli elettrodi una differenza di potenziale di 100-200 V si verifica una parziale ionizzazione del gas di riempimento (ad esempio Argon). Gli ioni

Laura Caterina Schinocca

Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di metalli pesanti

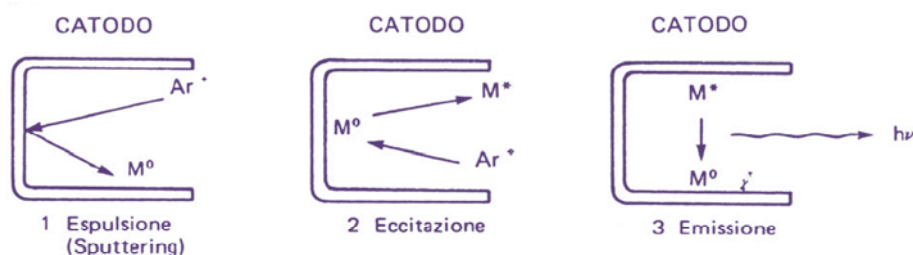
Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva

Università degli Studi di Sassari

positivi  $\text{Ar}^+$ , accelerati dal campo elettrico, urtano il catodo e provocano l'espulsione di atomi di metallo (cioè analita) allo stato fondamentale: questo fenomeno è detto sputtering e porta alla formazione di atomi vaporizzati, i quali collidono successivamente con altri atomi di  $\text{Ar}^+$ , eccitandosi (fig.10).

In seguito all'eccitazione e al conseguente rilassamento questi atomi emettono energia luminosa come banda spettrale a righe discrete.

Figura 12



In commercio esistono due tipi di lampade a catodo cavo:

*lampade a singolo elemento:* con queste si possono effettuare analisi di singoli elementi, e per questo sono adatte ad analisi di routine.

*lampade a multielemento:* con queste è possibile analizzare più elementi in successione. Il catodo in questo caso è ricoperto da più elementi (ovviamente compatibili) in lega.

Sono più versatili delle prime perché consentono un certo risparmio, ma comportano anche una diminuzione della sensibilità dell'analisi e danno anche origine, talvolta, a problemi di sovrapposizione delle righe spettrali.

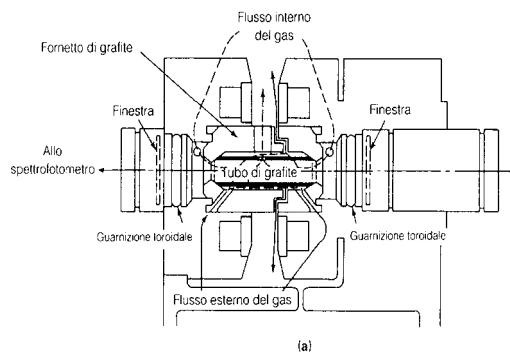
### 7.4.3. Rivelatore

Il rivelatore viene messo in condizione di riconoscere solo la radiazione che ci interessa effettuando una modulazione del segnale entrante; questa modulazione può essere ottenuta o per mezzo di un settore rotante (chopper, cioè per via meccanica) o alimentando la sorgente con corrente alternata.

#### 7.4.4. Gli atomizzatori: Fornetto di grafite

Si tratta di un sistema interamente automatizzato, che consente di abbassare notevolmente (1000 volte) i limiti di rivelabilità, inoltre consente di lavorare su aliquote molto piccole di campione.

Figura 13. Fornetto di grafite

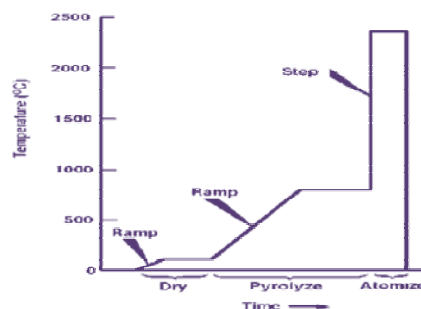


Un piccolo volume di campione (20-100  $\mu$ l) viene introdotto nel tubo di grafite, posto sul cammino ottico della radiazione emessa dalla sorgente.

Nel tubo fluisce un gas inerte, che espelle l'aria rendendo l'atmosfera non ossidante e quindi adatta a far rimanere gli atomi del campione allo stato fondamentale.

Il tubo (essendo di grafite, cioè un materiale inerte ad alta conducibilità) viene riscaldato elettricamente secondo un programma a tre stadi, condotti a temperature crescenti, che portano in successione a (fig.12): evaporazione del solvente (essiccamento), distruzione della matrice (incenerimento), volatilizzazione dell'analita (atomizzazione).

Figura 14. Programma di riscaldamento del tubo di grafite



La misura di assorbimento viene fatta sui vapori atomici che si liberano rapidamente nello stadio finale del riscaldamento.

Il segnale che si ottiene è un picco la cui area (altezza) è direttamente proporzionale alla concentrazione dell'analita presente allo stato atomico nel tubo di grafite.

I vantaggi associati all'impiego di questa tecnica sono: aliquote molto piccole di campione limiti di rivelabilità ridotti, tempi brevi di analisi (da 2 min a 30 sec).

#### **7.4.5. Interferenze spettrali e spettrali molecolari**

Le interferenze spettrali sono date da sovrapposizioni di segnali di assorbimento da parte del campione e delle eventuali sostanze interferenti alla lunghezza d'onda desiderata (per esempio interferenze date da altri metalli che presentano una linea spettrale situata in prossimità della riga di risonanza propria dell'elemento in analisi). Anche fumi e sostanze organiche causano un assorbimento non riconducibile solo all'analita, e quindi possono comportare errori notevoli.

Possono essere di vario tipo: 1) interferenze spettrali da emissione, 2) interferenze spettrali atomiche, 3) interferenze spettrali molecolari, 4) interferenze spettrali di scattering, 5) interferenze non specifiche.

La presenza di specie molecolari presenti nella fiamma può generare notevoli errori nell'analisi. Per esempio la presenza di calcio nella matrice di un campione di bario può provocare un errore (in eccesso) nella determinazione del bario. Infatti, la specie molecolare CaOH assorbe 554 nm, molto vicino alla riga di assorbimento del bario (553,6). Questo tipo di interferenza può essere minimizzato usando fiamme con temperature più elevate, migliorando l'efficienza di atomizzazione.

Interferenze non specifiche (disturbo di fondo). Le interferenze derivanti dall'assorbimento di radiazioni da parte di molecole e radicali presenti nella fiamma sono dette anche non specifiche. Questo assorbimento si somma a quello specifico del solo analita ed è detto assorbimento del fondo.

## 7.2. Aspetti metodologici, standards, programma di atomizzazione per i metalli

### Programma di atomizzazione per il cadmio

				<b>Lungh. d'onda</b>	<b>228,8 λ</b>
				<b>Corrente di Lampada</b>	<b>4 mA</b>
				<b>Tempo di integrazione</b>	<b>3 sec.</b>
				<b>Modalita' di integraz</b>	<b>area di picco</b>
				<b>Campione iniettato</b>	<b>20 µl</b>
				<b>Retta di taratura</b>	<b>0,2 0,4 1 ppb</b>
				<b>soluzioni Acido Nitrico 5M</b>	
<b>Step</b>	<b>C°</b>	<b>t. salita</b>	<b>t. perman.</b>		
1	120	10	10		
2	250	10	10		
3	350	8	12		
4	900	0	3	Stop Flow / Read	
5	2400	3	2		

### Programma di atomizzazione per il piombo

				<b>Lungh. d'onda</b>	<b>283,3 λ</b>
				<b>Corrente di Lampada</b>	<b>10 mA</b>
				<b>Tempo di integrazione</b>	<b>3 sec.</b>
				<b>Modalita' di integraz</b>	<b>area di picco</b>
				<b>Campione iniettato</b>	<b>20 µl</b>
				<b>Retta di taratura</b>	<b>10 20 50 ppb</b>
				<b>soluzioni Acido Nitrico 5M</b>	
<b>Step</b>	<b>C°</b>	<b>t. salita</b>	<b>t. perman.</b>		
1	120	10	10		
2	250	10	10		
3	450	10	10		
4	1100	0	3	Stop Flow / Read	
5	2500	3	3		

### Programma di atomizzazione per il nichel (fornetto pirolizzato)

<b>Lungh. d'onda</b>	<b>232 <math>\lambda</math></b>
<b>Corrente di Lampada</b>	<b>25 mA</b>
<b>Tempo di integrazione</b>	<b>3 sec.</b>
<b>Modalita' di integraz</b>	<b>area di picco</b>
<b>Campione iniettato</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>
<b>Retta di taratura 10 20 50 ppb</b>	
<b>soluzioni Acido Nitrico 5M</b>	

<b>Step</b>	<b>C°</b>	<b>t. salita</b>	<b>t. perman.</b>	
<b>1</b>	120	10	10	
<b>2</b>	250	10	10	
<b>3</b>	1200	10	12	
<b>4</b>	2700	0	3	Stop Flow / Read
<b>5</b>	2750	2	3	

### Programma di atomizzazione per il rame

<b>Lungh. d'onda</b>	<b>324,8 <math>\lambda</math></b>
<b>Corrente di Lampada</b>	<b>15 mA</b>
<b>Tempo di integrazione</b>	<b>3 sec.</b>
<b>Modalita' di integraz</b>	<b>area di picco</b>
<b>Campione iniettato</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>
<b>Retta di taratura 10 20 50 ppb</b>	
<b>soluzioni Acido Nitrico 5M</b>	

<b>Step</b>	<b>C°</b>	<b>t. salita</b>	<b>t. perman.</b>	
<b>1</b>	120	5	10	
<b>2</b>	250	10	10	
<b>3</b>	600	8	12	
<b>4</b>	2250	0	3	Stop Flow / Read
<b>5</b>	2600	2	3	

Tutti gli standards utilizzati per la curva di calibrazione hanno certificazione di tracciabilità NIST (National Institute of Standards and Technology).

## **8. Analisi statistica**

Per ciascun gruppo i campioni, divisi in funzione della zona di appartenenza, sono stati determinati media, deviazione standard, valori minimi e massimi del campo di variazione. Per valutare le differenti distribuzioni dei metalli dei campioni analizzati in funzione della città, classe di età è stato adottato il test statistico dell'analisi della varianza ad una via (one-way ANOVA). È stato infine utilizzato il coefficiente di correlazione di Pearson per determinare una possibile correlazione tra i vari metalli. Il programma utilizzato per l'analisi statistica è il Minitab 2000-2003.



## 9. Risultati

Sono stati raccolti 79 campioni di 79 soggetti (37 donne e 42 maschi) di età variabile tra i 10-80 anni.

Nella tabella 10 sono riportate le concentrazioni (ppm) dei metalli. Abbiamo riportato le concentrazioni dei diversi metalli e le loro deviazioni standard con  $p < 0,05$ . Per quanto riguarda la concentrazione del nichel, per tutti i campioni esaminati la loro concentrazione era minore di 0,05 ppm.

Gli elementi dentari sono stati suddivisi in relazione alle loro caratteristiche anatomiche in:

1. Incisivi (n°16)
2. Canini (n°4)
3. Premolari (n°18)
4. Molari (n°41)

Nella tabella 11 e grafico 5 sono riportate le medie, deviazioni standard delle concentrazioni dei metalli in funzione del tipo di dente. Come si può osservare la concentrazione di tutti i metalli varia in funzione del tipo di dente. Infatti l'andamento della concentrazione segue l'incisivo>canino>premolare>molare. Nella tabella 12 vengono riportate le statistiche della concentrazione dei metalli nelle diverse tipologie dei denti, risultati dell'analisi della varianza ad una via (ANOVA) relativi alla valutazione dell'esistenza di differenti distribuzioni statisticamente significative tra i denti. Come si può notare ancora dalla tabella 12 l'analisi post-hoc, (test di Tukey (HSD)) mette in evidenza come gli incisivi contengono più Pb dei molari, mentre canini e premolari hanno un comportamento intermedio, cioè non sono statisticamente diversi né da incisivi né da molari.

La popolazione è stata inoltre suddivisa in gruppi relativamente all'attività lavorativa:

1. Lavoratori nell'industria(n°13)
2. Coltivatori e allevatori (n°6)
3. Altro (n°60)

Nella tabella 13 sono riportate le Medie, deviazione standard della concentrazione dei metalli in funzione del tipo di professione

Laura Caterina Schinocca

Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di metalli pesanti

Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva

Università degli Studi di Sassari

Dalla tabella si può notare come la maggior concentrazione dei metalli è presente nelle persone che passano maggior tempo esposte all'ambiente rurale, come i coltivatori e allevatori.

Nella Tabella 14 (ANOVA e test Tukey) conferma che la concentrazione è più alta per la popolazione che svolge un lavoro all'aria aperta, e il test Tukey indica che per l'industria e per gli altri lavori le medie non sono statisticamente diverse.

Ulteriore suddivisione della popolazione esaminata è stata infatti in:

1. Fumatori
2. Non fumatori
3. Ex fumatori

Tabella 15 media e deviazione standard, i dati confermano come per i fumatori (una media di 10-20 sigarette al giorno) la concentrazione per il piombo, rame e cadmio sia più alta rispetto ai non fumatori. La concentrazione è ancora alta per gli ex fumatori, persone che avevano smesso di fumare da almeno 5 anni.

La tabella 16 (ANOVA e test Tukey) conferma la tendenza della maggiore concentrazione dei metalli per i fumatori

Nel grafico 6 è riportato la variazione della concentrazione dei metalli tra fumatori, ex fumatori, non fumatori.

Nel grafico 7 è riportato la variazione della concentrazione del cadmio (ppm) tra fumatori, ex fumatori, non fumatori.

Abbiamo valutato ulteriormente come la concentrazione dei metalli relativamente alle zone di appartenenza dei campioni.

1. Campioni raccolti nella città di Sassari (n°40)
2. Campioni raccolti nella città di Porto Torres (n°26)
3. Campioni raccolti nella città di Ottana (n°13)

Nella tabella 17 sono riportati i valori delle concentrazioni, deviazioni standards dei metalli pesanti in funzione della zona di appartenenza.

Nel grafico 8 è riportato la concentrazione del piombo nelle tre zone di appartenenza dei campioni

Nel grafico 9 è riportato la concentrazione del rame nelle tre zone di appartenenza dei campioni.

Nel grafico 10 è riportato la concentrazione del cadmio nelle tre zone di appartenenza dei campioni.

Nella tabella 18 (ANOVA e test Tukey) è riportata la concentrazione dei metalli pesanti in funzione della zona di appartenenza. Il test ANOVA conferma che la concentrazione più alta di piombo è nella popolazione di Ottana, anche se il campione (n=13) è più piccolo rispetto alle altre zone.

Nel grafico 11 è riportato la media e deviazione standards, media-ANOVA per il piombo e le città.

Nel grafico 12 è riportato la media e deviazione standards, media-ANOVA per il rame e le città.

Nel grafico 13 è riportato la media e deviazione standards, media-ANOVA per il cadmio e le città.

Nel grafico 14 è riportata l'età in funzione dalla zona di appartenenza e della concentrazione del piombo.

La classe di età è stata suddivisa in tre gruppi, in quanto il range di età non era omogeneo:

1. Nel gruppo 1 rientra la popolazione con < 25 anni
2. Gruppo 2 dai 25-50 anni
3. Gruppo 3 >50 anni

Nel grafico 15 è riportata la concentrazione del piombo, la classe di età, zona di appartenenza dei campioni.

Nella tabella 19 abbiamo riportato la concentrazione e la deviazione standard tra uomini e donne. Come si può notare, la concentrazione del piombo è più alta per gli uomini, sicuramente più esposti a livello occupazionale a questo metallo.

Nella tabella 20 è riportata la correlazione di Pearson per i metalli.

## 10. Discussione e Conclusioni

I metalli sono sempre più largamente impiegati nell'industria, nell'agricoltura (pesticidi) ma anche nei prodotti derivanti da differenti attività umane. Questo ha determinato un aumento della loro produzione ma anche un aumento del loro stoccaggio come rifiuti. Purtroppo i metalli pesanti non possono essere degradati né tantomeno distrutti; dunque per quanto possibile è necessario usare tecniche che consentano il massimo recupero possibile<sup>151</sup>.

Abbiamo visto come i metalli pesanti siano tra i composti più pericolosi e dannosi tra le sostanze inquinanti e come possano essere assorbiti dagli organismi attraverso cibo, acqua e aria; inoltre dalla letteratura risulta come il superamento di determinate quantità possa causare danni biologici. Essi, infatti, interagiscono e formano legami con le strutture cellulari in cui si depositano, ostacolando, come conseguenza diretta, lo svolgimento di determinate funzioni vitali, senza nessuna possibile via di eliminazione. Quando raggiungono concentrazioni cellulari sufficientemente alte, i metalli pesanti interferiscono con il processo biologico di produzione delle proteine e, quindi, la sintesi degli enzimi risulta alterata tanto da impedire le loro funzioni biologiche<sup>151</sup>. L'agenzia internazionale per la ricerca sul Cancro (IARC) ha determinato che piombo inorganico e nichel sono probabili cancerogeni per l'uomo<sup>27-28</sup> e che il cadmio è cancerogeno quando viene inalato.

Le principali sorgenti antropogeniche del piombo nell'ambiente derivano dal suo uso nel settore industriale e tecnologico, ma la fonte principale (80-90%) è stata per anni la combustione delle benzine con additivi al piombo tetraetile  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{Pb}$ . Infatti in Italia, fino al 2001, era consentito l'utilizzo della benzina contenente piombo purché il suo contenuto non superasse 0.15 g/l. E' dal 2005 che e' stata vietata l'immissione sul mercato di tali benzine<sup>152</sup>.

Laura Caterina Schinocca  
Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di metalli pesanti  
Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva  
Università degli Studi di Sassari

Nella nostra tabella 17 sono riportate le concentrazioni dei metalli che abbiamo monitorato nelle tre zone campione e che abbiamo ritrovato negli elementi dentari. Da una prima analisi, si osserva come la concentrazione del piombo sia più alta nella città di Sassari rispetto a quella di Porto Torres. E' possibile che il valore più elevato del piombo sia dovuto al maggior traffico urbano (macchine, bus, ecc) in città rispetto ai paesi limitrofi, e come già messo in evidenza fatto riconducibile all'uso di benzine "arricchite". Questa considerazione troverebbe giustificazione anche negli alti livelli di piombo dei campioni raccolti ad Ottana; si può ipotizzare in questo caso l'utilizzo di benzine agricole. Per gli altri metalli da noi osservati, non abbiamo rilevato grandi differenze tra le tre aree. Il confronto tra i nostri dati con quelli determinati in altre città sia in zone urbane che sub urbane (tabella 21), ci da dei risultati abbastanza confortanti. Rispetto ai valori di riferimento i nostri si trovano tra gli estremi più alti e più bassi. Oltre alle concentrazioni, nella tabella sono stati inseriti anche il metodo di determinazione strumentale e soprattutto il "tipo" di zone in cui sono stati effettuati gli studi. Come si può notare esistono zone, dello stesso Paese, come per esempio in Polonia, in cui l'inquinamento da piombo è più significativo nelle zone industriali rispetto alle rurali. I valori più bassi in assoluto sono stati registrati in paesi come la Norvegia, nei quali vi è un particolare rispetto per l'ambiente, oppure come la città di Merida in Venezuela, che trovandosi in una zona rurale ai piedi della Serra Nevada, non è esposta ad alte concentrazioni di inquinanti.

D'altra parte il comune di Sassuolo, situato 17 km a sudovest di Modena, uno dei principali centri industriali dell'Emilia, al centro del cosiddetto comprensorio delle ceramiche registra alti valori di piombo e nichel quasi sicuramente dovuti

all'utilizzo di pigmenti, coloranti e vernici utilizzati per la lavorazione e decorazione delle ceramiche.

**Tabella 21. Concentrazione dei metalli in altre parti del mondo**

Paese	Pb	Cd	Cu	Ni	metodica	articoli
Katowice, Poland	10.70±2.90	0.12±0.02	9.35±1.26		Atomic absorption spectrometer with flame atomization	Malara (2006) <sup>143</sup>
Poland, Beskid, zona industriale	36.3±11.5	2.5±1.2	5.6±13.7	4.9±1.9	by atomic absorption spectroscopy (AAS)	Nowak 2000 <sup>144</sup>
Merida, Venezuela zona rurale, ai piedi della sierra nevada	2.85 ±1.14		1.08 ± 0.81		atomic absorption spectrometer graphite furnace	Burguera 2002 <sup>9</sup>
Norway	1.37	0.113			AAS.. graphite furnace	Tinnereim 2000
Poland, Zwardon rurale	14.4±7.45	2.7±0,71	5.1 ±11.69	10.7±2.62	atomic absorption spectrometry	Nowak 1998
Poland Strumien' zona rurale	6.34 ±3.72	0.15 ±0.09	7.81 ±2.36		atomic absorption spectroscopy	Wiechula 2006 <sup>145</sup>
Port Pirie (Australia) zona industriale	14.24					McMichael (1994) <sup>146</sup>
Mexico industriale	8.28					Hernandez-Guerrer (2004) <sup>147</sup>
Pakistan industriale	5,78					Rahman (2002)
Kuwait(zona industriale)	2.35					Karakaya (1996) <sup>148</sup>
Sassuolo (Italia) zona industriale	6.16	47.9 ng/g				Bergomi (1989) <sup>149</sup>
Sardegna	3,46±3,20	0,0257±0,0249	0,419±0,363			

Le concentrazioni sono espresse in ppm

Abbiamo visto come l'inquinamento ambientale possa influenzare la presenza degli stessi agenti inquinanti all'interno dell'organismo. Nel nostro studio abbiamo trovato che a zone inquinate corrispondono indicatori biologici (denti) più inquinati. Esistono in letteratura studi che sottolineano come gli elementi dentali possano essere veicoli di scambio tra metalli e come questo avvenga, particolarmente per il piombo e per il cadmio, con il passare degli anni.

Esiste una correlazione positiva tra inquinamento, organismo umano e monitor biologici utilizzati. Tale correlazione mette in evidenza le reazioni fra quegli elementi che competono per i gruppi anionici (fosfato e/o carbonato) presenti

Laura Caterina Schinocca

Indagine sugli elementi dentali come possibili indicatori biologici di metalli pesanti

Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva

Università degli Studi di Sassari

nello smalto dentale che vanno a formare idrossifosfato stabile e/o idrossicarbonato. Per alcuni autori<sup>10</sup> questo dato potrebbe inoltre riflettere l'affinità per le stesse posizioni nella struttura cristallina, data la somiglianza delle loro proprietà fisico-chimiche. Alcuni elementi, con raggio ionico più grande del calcio ( $r=0.99 \text{ \AA}$ ), come per esempio il piombo ( $r=1.19 \text{ \AA}$ ), possono determinare un'espansione del cristallo, consentendo una incorporazione di elementi con un più piccolo raggio ionico, quale ad esempio il rame ( $r=0.57 \text{ \AA}$ ).

I denti non sono tutti uguali, ed è per questa ragione che li abbiamo suddivisi in base al loro peso e in base alla posizione che essi hanno nell'arcata dentale. I nostri gruppi sono dunque formati da incisivi, elementi di basso peso in grammi, canini, premolari ed infine molari con il più alto peso registrato. Il peso influisce notevolmente sulla quantità di idrossiapatite da analizzare e di conseguenza saremmo portati a concludere che più è estesa la superficie del dente e più inquinanti possiamo ritrovare; in realtà abbiamo visto che la posizione del dente in seno all'arcata gioca un ruolo determinante nel ritrovamento di inquinanti. Dato supportato dalla letteratura<sup>12</sup>, infatti la concentrazione dei metalli varia, e diminuisce passando da incisivo a molare, per esempio per il piombo nei denti decidui, è maggiore negli incisivi > canini > molari<sup>12</sup> come anche la nostra ricerca ha evidenziato per i permanenti. . La spiegazione di questo è dovuta anche ai diversi tempi di eruzione. Infatti gli incisivi sono quelli che erompono prima degli altri, e per la loro posizione sono quelli più esposti al contatto con l'ambiente esterno.

Altro importante dato che siano riusciti ad osservare, è la variazione della concentrazione dei metalli tra fumatori, ex fumatori (quasi tutti aveva smesso di fumare da almeno 5 anni) e i non fumatori. C'è una diminuzione della concentrazione dei metalli passando da fumatori a non fumatori, soprattutto per il piombo, ma nonostante questo la concentrazione di metalli riscontrata negli ex fumatori è più alta confermando come sia estremamente stabile il legame che i metalli contraggono con i tessuti mineralizzati del denti .

Sono stati analizzati solo denti che non avessero carie e amalgama, perché in letteratura sono riportati studi in cui la presenza di carie comporterebbe un aumento della concentrazione dei metalli, in virtù di una maggiore esposizione

della dentina all'ambiente infatti, i metalli aderirebbero più facilmente al tessuto cariato che alla superficie intatta dello smalto. Altri studi invece riportano che la concentrazione dei metalli non cambia se è presente la carie. Siccome i dati sono contrastanti si è deciso di limitare lo studio solo a denti sani, estratti per problemi paradontali o per trattamenti ortodontici. D'altra parte, l'uso di soli denti non cariati, riduce il numero di fattori da prendere in considerazione per spiegare i risultati ottenuti dallo studio.

In generale dall'analisi dei nostri dati, possiamo dire che i denti sono buoni indicatori biologici ed in grado di fornire utili informazioni sulla salute dell'individuo.



## **Conclusione**

I dati in nostro possesso ci permettono di trarre alcune conclusioni:

- i) I denti sono buoni markers di esposizione all'inquinamento ambientale.
- ii) Sono una spia permanente di avvenuta esposizione ad ambientali inquinati.
- iii) I livelli di piombo, rame e cadmio nei denti da noi campionati è vicina a quella riscontrabile in alcuni paesi europei.
- iv) I risultati del presente studio ci evidenziano come la zona di appartenenza, il lavoro svolto, abitudini voluttuarie, sesso, posizione dei denti nell'arcata, e l'età possano condizionare la concentrazione dei metalli negli elementi dentari.

## 11. Bibliografia

1. Fergusson JE, Purchase NG (1987) The analysis and levels of lead in human teeth: a review. *Environ Pollut* 46:11–44
2. Cleymaet R, Retief DH, Quartier E, Slop D, Coomans D, Michotte Y (1991b) A comparative study of the lead and cadmium content of surface enamel of Belgian and Kenyan children. *Sci Tot Environ* 104:175–189
3. Hallerla, Olmez I, Baratz R, Rabinowitz M, Douglas CW (1993) Dentin as a possible bio-epidemiological measure of exposure to mercury. *Arch Environ Contam Toxicol* 25:124–128
4. Nowak B (1995) Occurrence of heavy metals and sodium, potassium and calcium in human teeth. *Analyst* 120:747–750
5. Boivin G, Deloffre P, Perrat B, Panczer G, Boduelle M, Mauras Y, et al. Strontium distribution and interactions with bone-mineral in monkey iliac bone after strontium salt (S-12911) administration. *J Bone Miner Res* 1996;11:1302–11.
6. Kwapulinski J, Brodziak B, Bogunia M. Relative change of elements in human osseous tissue. *Bull Environ Contam Toxicol* 2003;70:1089–96.
7. Manea-Krichthen M, Patterson C, Miller G, Settle D, Erel Y. Comparative increases of lead and barium with age in human tooth enamel, rib and ulna. *Sci Total Environ* 1991;107:179–203.
8. Tvinnereim HM, Eide R, Riise T. Heavy metals in human primary teeth: some factors influencing the metal concentrations. *Sci Total Environ* 2000;255:21–7.
9. Burguera E, Romero Z, Burguera M, Burguera JL, de Arenas H, Rondon C, et al. Determination of some cationic species in temporary teeth. *J Trace Elem Med Biol* 2002;16:103–12.
10. Lappalainen R, Knuuttila M. Atomic absorption spectrometric evidence of relationships between some cationic elements in human dentine. *Arch Oral Biol* 1982;27:827–30.
11. Bayo J, Moreno-Grau S, Martinez MJ, Moreno J, Angosto JM, Guillen Perez JJ, et al. Environmental and physiological factors affecting lead and

cadmium levels in deciduous teeth. Arch Environ Contam Toxicol 2001;41:247-54.

12. Young, R. A. (1974) Implications of Atomic Substitutions and other Structural Details in Apatites. J. Dental Res. 53, 193-202.
13. Boivin, G., DeLoffre, P., Perrat, B., Panczer, G., Boudeulle, M., Mauras, Y., Allain, P., Tsouderos Y. and Meunier, J. (1996) Strontium distribution and interactions with bonemineralin monkey iliac bone after strontium salt (<sup>87</sup>Sr-12911) administration. J. Bone Mineral Res. 11, 1302-1311.
14. Derise, N. L., Ritchey, S. J. and Furr, A. K. (1974) Mineral Composition of Normal Human Enamel and Dentin and the relation of Composition to Dental Caries: I. Macrominerals and Comparison of Methods of Analyses. J. Dental Res. 53, 847-851.
15. Derise, N. L. and Ritchey, S. J. (1974) Mineral Composition of Normal Human Enamel and Dentin and the relation of Composition to Dental Caries: II. Microminerals. J. Dental Res. 53, 853-857.
16. Fergusson, J. E. and Purchase, N. G., (1987) The Analysis and levels of lead in Human Teeth: A Review. Environ. Pollut., 46, 11-44
17. Censimento ISTAT 31-03-08
18. EPA (1987); Federal Register 56 (110): 26460-26564 (1991).
19. Baldwin R, Marshall W (1999) Heavy metal poisoning and its laboratory investigation. Ann Clin Biochem 36: 267±300
20. Greim H. and Deml E (2000) Tossicologia. Zanichelli, Bologna. Pp. 398.
21. Sunderman FW Jr, Aitio A, Morgan LG, et al. 1986. Biological monitoring of nickel. Toxicol Ind Health 2:17-78
22. 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
23. 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.

24. Barciszewska M. Z., Szymaski M., Wyszko E., Pas J., Rychlewski L., Barciszewski J. (2004) Lead toxicity through the leadzyme. *Mutat Res.* 589(2), pp: 103 – 110.
25. <http://www.iss.it/binary/publ/cont/06-13.1149071187.pdf>
26. Contaminazione ambientale da metalli pesanti connessa con attività mineraria dismessa in Sardegna. Studio preliminare Rapporti ISTISAN 04/28 2004, pag 20
27. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs15.html>
28. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs132.html>
29. USGS. 2008. Cadmium. Mineral commodity summaries. U.S. Geological Survey. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/cadmium/mcs-2008-cadmi.pdf>. April 29, 2008.
30. Thornton I. 1992. Sources and pathways of cadmium in the environment. In: Nordberg GF, Herber RFM, Alessio L, eds. Cadmium in the human environment: Toxicity and carcinogenicity. IARC Scientific Publications No. 118. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 149-162
31. IARC. 1993. Cadmium and certain cadmium compounds. In: IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry. IARC monographs, Vol. 58. Lyon, France: World Health Organization. International Agency for Research on Cancer, 119-236.
32. EPA. 2006d. Technical factsheet on cadmium: Ground water and drinking water. <http://www.epa.gov/OGWDW/dwh/t-ioc/cadmium.html>. July 28, 2008
33. Herron N. 2003. Cadmium compounds. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. Vol. 4. John Wiley & Sons, Inc., 507-523. [http://mrw.interscience.wiley.com/emrw/9780471238966/kirk/article/cadm\\_herr.a01/current/pdf](http://mrw.interscience.wiley.com/emrw/9780471238966/kirk/article/cadm_herr.a01/current/pdf). April 29, 2008.
34. USGS. 1999. Mineral commodity summary: Cadmium. Reston, Virginia: U.S. Geological Survey.

35. NTP. 2005. Report on carcinogens. 11th ed. Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program. <http://ntpserver.niehs.nih.gov/ntp/roc/toc11.html>. April 24, 2008
36. CDC. 2005. Third national report on human exposure to environmental chemicals. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention.
37. Alloway BJ, Steinnes E. 1999. Anthropogenic additions of cadmium to soils. In: Cadmium in soils and plants. Kluwer Academic Publishers, 97-123.
38. Morrow H. 2001. Cadmium and cadmium alloys. In: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. John Wiley & Sons, Inc., 471-507.
39. Galal-Gorchev H. 1993. Dietary intake, levels in food and estimated intake of lead, cadmium and mercury. Food Addit Contam 10(1):115-128
40. ATSDR. 1999. Toxicological Profile for Cadmium (Final Report). NTIS Accession No. PB99-166621. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 434 pp.
41. Watanabe T, Kasahara M, Nakatsuka H, et al. 1987. Cadmium and lead contents of cigarettes produced in various areas of the world. Sci Total Environ 66:29-37.
42. Ellis KJ, Vartsky D, Zanzi I, et al. 1979. Cadmium: *In vivo* measurement in smokers and nonsmokers. Science 205:323-325
43. Lewis GP, Coughlin L, Jusko W, et al. 1972a. Contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man. Lancet 1:291-292.
44. Lewis GP, Jusko WJ, Coughlin LL. 1972b. Cadmium accumulation in man: Influence of smoking, occupation, alcoholic habit and disease. J Chronic Dis 25:717-726
45. Wester RC, Maibach HI, Sedik L, et al. 1992. *In vitro* percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. Fundam Appl Toxicol 19:1-5.

46. Davison AG, Newman Taylor AJ, Darbishire J, Chettle DR, Guthrie CJ, O'Malley D, et al. Cadmium fume inhalation and emphysema. *Lancet* 1988; i: 663±7
47. Carruthers MM, Smith B. Evidence of cadmium toxicity in a population living in a zinc-mining area. Pilot survey of Shipham residents. *Lancet* 1979; 845±73
48. Foulkes EC, Blanck S. 1990. Acute cadmium uptake by rabbit kidneys: Mechanism and effects. *Toxicol Appl Pharmacol* 102:464-473.
49. Roberts CA, Clark JM. 1988. *In vivo* depression of reserve albumin binding capacity by cadmium: A preliminary evaluation. *Life Sci* 42:1369-1374.
50. Goyer RA, Miller CR, Zhu SY, et al. 1989. Non-metallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 101:232-244.
51. Kjellstrom T. Mechanism and epidemiology of bone effects cadmium. *IARC Sci Publ* 1992; 118: 301±10
52. Chambers RC, McNaulty RJ, Shock A, Campa JS, Newman Taylor AJ, Laurent GJ. Cadmium selectively inhibits fibroblast procollagen production and proliferation. *Am J Physiol* 1994; 267: L300±08
53. Lemen RA, Lee JS, Wagoner JK, Blejer HP. Cancer mortality among cadmium production workers. *Ann NY Acad Sci* 1976; 271: 274±93
54. Armstrong BG, Kazantzis G. The mortality of cadmium workers. *Lancet* 1983; i: 1425±7
55. King M, Ramachandran V. 1995. Lead. In: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 4th edition. New York, NY: John Wiley & Sons, 69-113.
56. Sutherland CA, Milner EF. 1990. Lead. In: Elvers B, Hawkins S, Schulz G, eds. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 5th edition. New York, NY: VCH Publishers, 193-236.
57. USGS. 2003. Lead. Minerals yearbook. U.S. Geological Survey. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/lead/leadmyb03.pdf>. March 28, 2005.

58. Bergdahl IA, Grubb A, Schutz A, et al. 1997a. Lead binding to  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase(ALAD) in human erythrocytes. *Pharmacol Toxicol* 81:153-158
59. Bergdahl IA, Sheveleva M, Schutz A, et al. 1998. Plasma and blood lead in humans: Capacity-limited binding to  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase and other lead-binding components. *Toxicol Sci* 46:247253.
60. Bergdahl IA, Vahter M, Counter SA, et al. 1999. Lead in plasma and whole blood from lead-exposed children. *Environ Res* 80:25-33.
61. Manton WI, Rothenberg SJ, Manalo M. 2001. The lead content of blood serum. *Environ Res* 86:263273.
62. Al-Modhefer AJA, Bradbury MWB, Simmons TJB. 1991. Observations on the chemical nature of lead in human blood serum. *Clin Sci* 81:823-829.
63. Ong CN, Lee WR. 1980a. Distribution of lead-203 in human peripheral blood *in vitro*. *Br J Ind Med* 37:78-84
64. Chamberlain A, Heard C, Little MJ, et al. 1978. Investigations into lead from motor vehicles. Harwell, United Kingdom: United Kingdom Atomic Energy Authority. Report no. AERE-9198. 1979. The dispersion of lead from motor exhausts. *Philos Trans R Soc Lond A* 290:557-589.
65. ATSDR ToxFAQs™ for Lead <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts13.html>
66. Kumar S, Jain S, Aggarwal CS, et al. 1987. Encephalopathy due to inorganic lead exposure in an adult. *Jpn J Med* 26:253-254.
67. Needleman HL, Gatsonis CA. 1990. Low-level lead exposure and the IQ of children: A meta-analysis of modern studies. *J Am Med Assoc* 263(5):673-678.
68. Pocock SJ, Smith M, Baghurst P. 1994. Environmental lead and children's intelligence: A systematic review of the epidemiological evidence. *Br Med J* 309:1189-1197.
69. Schwartz J. 1994. Low-level lead exposure and children's IQ: A meta-analysis and search for a threshold. *Environ Res* 65:42-55.
70. Verberk MM, Willems TE, Verplanke AJ, et al. 1996. Environmental lead and renal effects in children. *Arch Environ Health* 51(1):83-87.

71. Barry PSI. 1975. A comparison of concentrations of lead in human tissue. Br J Ind Med 32:119-139.
72. Barry PSI. 1981. Concentrations of lead in the tissues of children. Br J Ind Med 38:61-71.
73. Fleming DEB, Boulay D, Richard NS, et al. 1997. Accumulated body burden and endogenous release of lead in employees of a lead smelter. Environ Health Perspect 105(2):224-233.
74. Inskip MJ, Franklin CA, Bacchanale CL, et al. 1996. Measurement of the flux of lead from bone to blood in a nonhuman primate (*Macaca fascicularis*) by sequential administration of stable lead isotopes. Fundam Appl Toxicol 33:235-245.
75. IARC. 2004. Overall evaluations of carcinogenicity to humans: As evaluated in IARC Monographs volumes 1-82 (at total of 900 agents, mixtures and exposures). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. <http://www-cie.iarc.fr/monoeval/crthall.html>. February 15, 2005.
76. IRIS. 2005. Lead. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC: Integrated Risk
77. Information System. <http://www.epa.gov/iris/>. March 26, 2005.
78. Ericson JE. 2001. Enamel lead biomarker for prenatal exposure assessment. Environ Res 87:136-140.
79. Gomes VE, Rosario de Sousa ML, Barbosa F, et al. 2004. In vivo studies on lead content of deciduous teeth superficial enamel of preschool children. Sci Total Environ 320:25-35.
80. Omar M, Ibrahim M, Assem H, et al. 2001. Teeth and blood lead levels in Egyptian schoolchildren: Relationship to health effects. J Appl Toxicol 21:349-352.
81. Rabinowitz MB, Leviton A, Bellinger D. 1989. Blood lead-tooth lead relationship among Boston children. Bull Environ Contam Toxicol 43:485-492
82. Gulson BL. 1996. Tooth analyses of sources and intensity of lead exposure in children. Environ Health Perspect 104:306-312



83. Steenhout A, Pourtois M. 1987. Age-related lead kinetics in children. In: Trace elements in human health and disease, Second Nordic symposium, Odense, Denmark, August 17-21, 1987. Copenhagen, Denmark: World Health Organization, 144-147
84. Gulson BL, Wilson D. 1994. History of lead exposure in children revealed from isotopic analyses of teeth. *Arch Environ Health* 49(4):279-283.
85. Rabinowitz MB. 1995. Relating tooth and blood lead levels in children. *Bull Environ Contam Toxicol* 55:853-857.
86. Rabinowitz MB, Leviton A, Bellinger D. 1993. Relationships between serial blood lead levels and exfoliated tooth dentin lead levels: Models of tooth lead kinetics. *Calcif Tissue Int* 53(5):338-41.
87. Steenhout A. 1982. Kinetics of lead storage in teeth and bones: An epidemiologic approach. *Arch Environ Health* 37(4):224-231.
88. NAS. 1975. Nickel. National Academy of Sciences. Washington, DC: National Academy Press, 4, 5,17.
89. Barceloux DG. 1999. Nickel. *Clin Toxicol* 37(2):239-258.
90. Sunderman FW Jr. 1986. Sources of exposure and biological effects of nickel. In: O'Neill IK, Schuller P, Fishbein L, eds. Environmental carcinogens selected methods of analysis. Volume 8: Some metals: As, Be, Cd, Cr, Ni, Pb, Se, Zn. IARC scientific publication no. 71. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 79-92.
91. Hausinger R.P., *Biochemistry of Nickel*, vol 12, New York : Plenum Press, 1993
92. Eitinger T., M.A. Mondrand-Berthelot, Nickel transport systems in microorganisms. *Arch. Microb.* (2000) Jan;173(1):1-9
93. Hausinger RP: Metallocenter assembly in nickel-containing enzymes. *J Biol Inorg Chem* 1997, 2:279-286
94. De Pina K., Desjardin V., Mondrand-Berthelot M.A., Giordano G., Wu L.F. Isolation and characterization of the *nikR* gene encoding a nickel-responsive regulator in *Escherichia coli*. : *J Bacteriol.* 1999 Jan;181(2):670-4

95. IARC, Lyon, France Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chromium, Nickel and Welding, Vol. 49 (1990)
96. Tien JK, Howson TE. 1981. Nickel and nickel alloys. In: Grayson M, Eckroth D, eds. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, Vol. 15, 3rd ed. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc., 787-801.
97. Kuck PH. 2002. Nickel. In: U.S. geological survey minerals yearbook. <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/nickel/>. December 30, 2004.
98. Bennet B. G.. Enviromental nickel pathways in man. In : F. W. Sanderman Jr., (Ed.) Nickel in the Human Enviroment IARC Scientific Publication N. 53, pp 487-495. Lyon : IARC
99. Oller A. R., Costa M., Oberdorsten G.: Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds. Toxicol. Appl. Pharm. 1997 Mar;143(1):152-66
100. Laussac J., Sarkar B., Characterization of the copper(II)- and nickel(II)-transport site of human serum albumin. Studies of copper(II) and nickel(II) binding to peptide 1-24 of human serum albumin by <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. Biochem. 1984 Jun 5;23(12):2832-8
101. Mennè T., Nieboer E.: Metal Contact Dermatitis: A Common and Potentially Debilitatine Disease. Endeavor 13 (1989) 117-122
102. T. Fisher, 1989. Occupational Nickel Dermatitis. In : H.I. Maibach,; T. Menne', eds. Nickel and the Skin: Immunology and Toxicology. Boca Raton, Florida: CRC Press. pp 117-132
103. Kenney MA, McCoy H. 1992. A review of biointeractions of Ni and Mg. I. Enzyme, endocrine, transport, and skeletal systems. Magnes Res 5:215-222.
104. Sunderman FW Jr. 1989b. Mechanisms of nickel carcinogenesis. Scand J Work Environ Health 15:1-12.
105. Arnich N, Lanhers MC, Cunat L, et al. 2000. Nickel absorption and distribution from rat small intestine in situ. Biol Trace Elem Res 74(2):141-151.

106. Tallkvist J, Tjalve H. 1994. Nickel absorption from perfused rat jejunal and ileal segments. *Pharmacol Toxicol* 75:233-243.
107. Sunderman FW Jr, Oskarsson A. 1991. Nickel. In: Merian E, ed. *Metals and their compounds in the environment*. New York, NY: VCH Verlagsgesellschaft, 1101-1126.
108. Costa M, Zhuang Z, Huang X, et al. 1994. Molecular mechanisms of nickel carcinogenesis. *Sci Total Environ* 148:191-199.
109. Kasprzak KS, Sunderman FW Jr, Salnikow K. 2003b. Nickel carcinogenesis. *Mutat Res* 533(1-2):67-97.
110. Oller AR, Costa M, Oberdorster G. 1997. Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 143:152-166.
111. Zoroddu MA, Schinocca L, Kowalik-Jankowska T, et al. 2002. Molecular mechanisms in nickel carcinogenesis: Modeling Ni (II) binding site in histone H4. *Environ Health Perspect Suppl* 110(5):719-723.
112. Karjalainen S., Kerttula R., Pukkala E.: Cancer Risk among Workers at a Copper/Nickel Smelter and Nickel Refinery in Finland. *Arch. Occup. Environ. Health* 63 (1992) 547-551
113. <http://www.nickelinstitute.org/1/0/index1.shtml>
114. Kasprzak K.S., Possible role of oxidative damage in metal-induced carcinogenesis. *Cancer Invest* 1995;13(4):411-30
115. Kasprzak K.S., in *Cytotoxic, Mutagenic and Carcinogenic Potential of Heavy Metals Related to Human Environments* (N. Hadjiladis, Ed.) NATO ASI Series2, Environment, Vol. 2, pp 73-92 Kluwer, Dordrecht, the Netherlands.
116. Costa M., Differences in the effect of vitamin E on nickel sulfide or nickel chloride-induced chromosomal aberrations in mammalian cells. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 31 (1991) 321
117. Lee Y. W., Klein C. B., Kargacin B., Salnikow K., Kitahara J., Dowjat K., Zhitkovich A., Costa M.; Carcinogenic nickel silences gene expression by chromatin condensation and DNA methylation: a new model for epigenetic carcinogens. *Mol Cell Biol.* 1995 May;15(5):2547-57.

- 118.Hartmann M., Hartwig A., Disturbance of DNA damage recognition after UV-irradiation by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells. *Carcinogenesis* 1998 Apr;19(4):617-21.
- 119.Zhou D, Salnikow K, Costa M. Cap43, a novel gene specifically induced by Ni<sup>2+</sup> compounds. *Cancer Res.* 1998 May 15;58(10):2182-9.
- 120.Duby P. 1980. Extractive metallurgy. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. New York, NY: John Wiley and Sons, 739-767.
- 121.EPA. 2002j. Water programs. Designation of hazardous substances. U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR 116.4. <http://ecfrback.access.gpo.gov/otcg>. April 10,2002.
- 122.<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs132.html#bookmark02>
- 123.Tao TY, Liu F, Klomp L, et al. 2003. The copper toxicosis gene product murr1 directly interacts with the Wilson disease protein. *J Biol Chem* 278(43):41593-41596.
- 124.Kiaer, Keeling, Hansen: Il cranio umano in età prenatale sviluppo normale e patologico. Edi-ermes 2003 pag53-58
- 125.Loey: Elementi di odontoiatria infantile. Un approccio clinico Edizioni Internazionali srl Milano 1987.
- 126.Avery J.K. (Ed.), Oral Development and Histology, Williams and Wilkins: Baltimore, MD, 1987, Development of teeth and supporting structures, Section II, pp. 80– 122 and Structure of teeth, Section III, p. 140
- 127.Goracci G, Mori G, De' Martinis L. L'adesione dei compositi alla dentina. *Aspetti microscopici.* *Dental Cadmos* 1995;19:11-52
- 128.Curzon M.E.J., J.D.B. Featherstone, in: Lazari EP (Ed.) Levy BM. (Ed. in Chief), *CRC Handbook of Experimental Aspects of Oral Biochemistry*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1983, p. 123
- 129.Elliot J.C., Ciba Found Symp., vol. 205, Wiley, Chichester, 1997, p. 54.
130. Tani-Botticelli: Imparando dall'esperienza: Atlante di igiene orale edizione arinum odontologica 2008
- 131.De Michelis B, Modica R, Re G. Trattato di clinica odontostomatologica. Torino: Ed. Minerva Medica; 1986. Vol. I. p.65-9.

- 132.Pashley DH, Tao L, Derkson G, et al. Dentin permeability and bond strenghts after various surface treatments. Dent. Mater. 1989;5:375-8.
- 133.Goracci G, Mori G, De' Martinis L. L'adesione dei compositi alla dentina. Aspetti microscopici. Dental Cadmos 1995;19:11-52
- 134.Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate - a review. Scan. Microsc. 1989;3:161-72.
- 135.Costa, Formisano, Goracci, Caiazza: L'esame delle superfici dentinali sclerotiche al microscopio elettronico a scansione Istituto Superiore di Sanità 2001, 35 p. Rapporti ISTISAN 01/1
- 136.Fergusson J.E., Purchase N.G., Purch. Environ. Pollut. 46 (1987) 11
- 137.Derise, N. L., Ritchey, S. J. and Furr, A. K. (1974) Mineral Composition of Normal Human Enamel and Dentin and the elation of Composition to Dental Caries: I. Macrominerals and Comparison of Methods of Analyses. J. Dental Res. 53 847-851.
- 138.Valletta G. Clinica odontostomatologica. Editrice Medica Salernitana. p. 54-5, p.127-33.
- 139.tetide.geo.uniroma1.it/dst/grafica\_nuova/bacheca/mineraliesalute/Salviulo.pdf
- 140.Underwood, E. J. (1977) Trace ELeMents in Human and Animat Nutrition. VoL. 2, Ed. PLenum Press, New York, USA
- 141.Vogel. Analisi chimica quantitativa di B. S. Furniss. CEA. 1995
- 142.[www.chimicando.it/contributi/spettroscopiaAA.pdf](http://www.chimicando.it/contributi/spettroscopiaAA.pdf)
- 143.Malara P, Kwapulinski J, Malara B Do the levels of selected metals differ significantly between the roots of carious and non-carious teeth? Science of the Total Environment 369 (2006) 59–68
- 144.Nowak B, Chmielnicka J. Relationship of lead and cadmium to essential elements in hair, teeth, and nails of environmentally exposed people. Ecotoxicol Environ Saf 2000;46:265–74.
- 145.Wiechuła D, Kwapulin'ski J, Manderla J (2001) Application of the principal component analysis and cluster analysis to the estimation of environmental impact on a population of women in the perinatal period. Bromat Chem Toksykol 34:249–257

146. McMichael AJ, Baghurst PA, Vimpani GV, Wigg NR, Robertson EF, Tong S. Tooth lead levels and IQ in school-age children: the Port Pirie cohort study. *Am J Epidemiol* 1994;140:489-499.
147. Hernandez-Guerrero, J.C., Jimenez-Farfan, M.D., Belmont, R., Ledesma-Montes, C., Baez, A., 2004. Lead levels in primary teeth of children living in Mexico city. *Int. J. Pediatr. Dent.* 14, 175–181.
148. Karakaya, A., Ilko, M., Ulusu, T., Akal, N., Isimer, A., Karakaya, A.E., 1996. Lead levels in deciduous teeth of children from urban and suburban regions in Ankara (Turkey). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 16–20.74.
149. Bergomi, M., Barella, P., Fantuzzi, G., Vivoli, G., Sturloni, N., Carazzuti, G., Tampieri, A., Tartoni, P.L., 1989. Relationship between lead exposure indicators and neuropsychological performance in children. *Dev. Med. Child Neurol.* 31, 181–190.
150. Chiacchierini E. and Lucchetti M. – 1997 - *Materie prime, trasformazione ed impatto ambientale*. Ed. Kappa, Roma. pp. 250.
151. Payne J.F., Malins D.C., Gunselman S., Rahimtula A., Yeats P.A. – 1998 – DNA oxidative damage and vitamin A reduction in fish from a large lake system in Labrador, Newfoundland, contaminated with iron-ore mine tailings. *Marine Environmental Research.* (46), pp: 289 - 294.
152. *Gazzetta Ufficiale Italiana* n° 25 del 31/01/2001

## 12. Tabelle e grafici

Tabella 10. Concentrazioni dei metalli nei campioni esaminati (ppm)

Campioni	Pb	Cu	Cd	Ni
79	3,46±3,20	0,419±0,363	0,0257±0,0249	<0,05

P<0,05

Tabella 11. Le medie, deviazioni standards delle concentrazioni dei metalli in funzione del tipo di dente.

Denti	Pb	Cu	Cd	Ni
Incisivi (n° =16)	5,6±4,0	0,51±0,35	0,33±0,30	<0,05
Canini (n° =4)	2,9±2,8	0,60±0,66	0,04±0,03	<0,05
Premolari(n°=18)	3,1±2,9	0,27±0,19	0,032±0,028	<0,05
Molari (n° =41)	2,81±2,7	0,44±0,38	0,018±0,016	<0,05

Grafico 5. Concentrazione dei metalli nei diversi denti

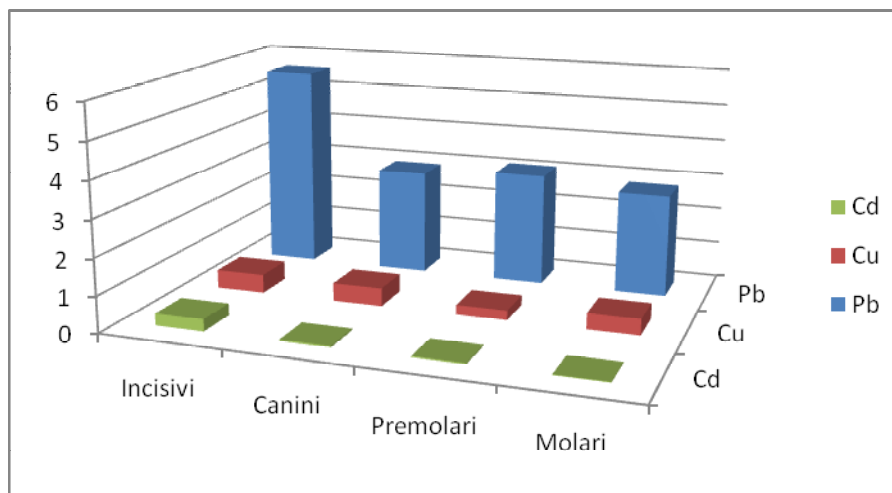


Tabella 12(ANOVA) distribuzioni statisticamente significative tra i denti

Denti	Pb	Cu	Cd
Incisivi(n=16)	5,60 (A)	0,51	0,04
Canini (n=4)	2,92 (AB)	0,49	0,034
Premolari(n=18)	3,01(AB)	0,27	0,032
Molari (n=41)	2,82(B)	0,44	0,018
Significatività	0,0462	n.s.	0,0709

Laura Caterina Schinocca

Indagine sugli elementi dentari come possibili indicatori biologici di metalli pesanti

Dottorato di ricerca in Odontostomatologia Preventiva

Università degli Studi di Sassari

**Tabella 13. Medie, deviazione standards della concentrazione dei metalli in funzione del tipo di professione**

<b>Professione</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Ni</b>
<b>Campagna(n=6)</b>	<b>9,06±301</b>	<b>0,28±0,14</b>	<b>0,042±0,035</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Altro (n=60)</b>	<b>3,06±4,62</b>	<b>0,41±0,36</b>	<b>0,023±0,025</b>	<b>&lt;0,05</b>
<b>Industria (n=13)</b>	<b>2,63±1,93</b>	<b>0,51±0,42</b>	<b>0,029±0,022</b>	<b>&lt;0,05</b>

**Tabella 14.(ANOVA e test Tukey) Concentrazione dei metalli in funzione del tipo di professione**

<b>Professione</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>
<b>Campagna (n=6)</b>	<b>9,06 (A)</b>	<b>0,28</b>	<b>0,042</b>
<b>Altro (n=60)</b>	<b>3,06 (B)</b>	<b>0,41</b>	<b>0,023</b>
<b>Industria (n=13)</b>	<b>2,63(B)</b>	<b>0,51</b>	<b>0,029</b>
<b>Significatività</b>	<b>&lt;0001</b>	<b>n.s.</b>	<b>n.s</b>

**Tabella 15 Concentrazione dei metalli del dente di un fumatore, ex fumatore, non fumatore.**

<b>Fumatori</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>
<b>Fumatori (n=21)</b>	<b>4,44±3,50</b>	<b>0,52±0,30</b>	<b>0,04±0,01</b>
<b>Ex fumatori (n=10)</b>	<b>2,84±0,97</b>	<b>0,36±0,28</b>	<b>0,035±0,023</b>
<b>Non fumatori (n=46)</b>	<b>2,45±2,03</b>	<b>0,39±0,24</b>	<b>0,028±0,015</b>

**Tabella 16 (ANOVA e test Tukey) Concentrazione dei metalli del dente di un fumatore, ex fumatore, non fumatore.**

<b>fumatori</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>
<b>fumatori (n=21)</b>	<b>4,44 (A)</b>	<b>0,52(A)</b>	<b>0,036(A)</b>
<b>Ex fumatori (n=10)</b>	<b>2,52(AB)</b>	<b>0,39(A)</b>	<b>0,028 (A)</b>
<b>Non fumatori (n=46)</b>	<b>2,49(B)</b>	<b>0,33(A)</b>	<b>0,014(A)</b>
<b>Significatività</b>	<b>0,0404</b>	<b>n.s.</b>	<b>0,0479</b>