

Sensibilità chimica multipla dal punto di vista delle proprietà fisiologiche e genetiche di popolazioni umane interessate da stress chimico

Karl-Rainer Fabig*

Traduzione dall'inglese di Francesca Romana

* Medico d'Amburgo. – Tale presentazione è avvenuta il secondo giorno del "Workshop della Rete Telematica strategia della sostenibilità" (www.sustainability-strategy.net) "*Dalla scienza della sostenibilità a proposte governative di sostenibilità per un miglioramento dell'elaborazione e realizzazione di una strategia europea della sostenibilità*" tenuto dal 01. al 03.12.2004 a Roskilde e Copenhavn

Sommario

Introduzione

Le malattie indotte dalle sostanze chimiche sono condizioni mediche che destano preoccupazione. Le ragioni per cui alcuni pazienti sviluppano sintomi clinici a causa di esposizioni a basse dosi sono completamente sconosciute. Questo porta ad una percentuale errata aumentata d'individui, con "sintomi correlati alle sostanze chimiche" (CRS) identificati come pazienti psichiatrici o di qualsiasi altra malattia.

Metodi

1.143 (il 41.6 per cento) di tutti i 2.746 pazienti (visitatori nel mio studio ad Amburgo), tra il gennaio 2000 e il dicembre 2003 hanno risposto ad un questionario convalidato su sintomi chimici chiamato "QEESI modificato". Lo scopo principale era la stima e la documentazione dei punteggi delle prime dieci voci denominate "capacità di sensibilizzazione alle sostanze chimiche" (SCC). Successivamente, senza avere alcun'informazione medica, il Dott. Eckart Schnakenberg biologo molecolare (Università di Brema, direttore dell'"Institute for Pharmacogenetics and Genetic Disposition" -IPGD) ha analizzato le varianti di gene degli enzimi

N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferase M1, glutathione

S-transferase T1. I singoli polimorfismi nucleotide di questi geni della Fase II del metabolismo delle sostanze xenobiotiche sono stati analizzati per 861 pazienti. Dopo aver escluso coloro che avevano meno di 20 anni o più di 90 anni, le malattie psichiatriche e/o le malattie neurologiche e le cause etniche, sono rimasti 800 individui caucasici per lo studio su casi e gruppo di controllo.

Risultati

I singoli polimorfismi nucleotide di questi geni e delle otto possibili combinazioni di variabili genetiche, a causa della dicotomia dei fenotipi degli enzimi, erano in correlazione significativamente con la capacità riferita di sensibilizzazione delle sostanze chimiche ($F=30.52$; $p < 0.000$). E' stata osservata la modifica dei sintomi correlati a sostanze chimiche in persone che non avevano avuto nessuna esposizione chimica (esposizione in sottofondo). Dopo l'esposizione chimica, gli effetti dei sintomi SCC correlati a sostanze chimiche, misurati con biomonitoraggio e controllo dell'ambiente erano più forti.

Conclusione

Le osservazioni danno prova che i singoli polimorfismi nucleotide, all'interno di questi geni contribuiscono ad un rischio individuale per lo sviluppo di sintomi correlati alle sostanze chimiche. Tuttavia, questi risultati possono aiutare a identificare influenze genetiche in pazienti che soffrono di sintomi correlati a sostanze chimiche e ridurre il numero di pazienti classificati male. Da un punto di vista politico, le scoperte possono modificare le strategie di sostenibilità e i piani di valutazione delle sostanze chimiche nel processo REACH dell'Unione Europea.

Parole chiave: questionario, capacità di sensibilizzazione delle sostanze chimiche, sintomi correlati con sostanze chimiche, sindrome da sensibilità chimica, esposizione, suscettibilità, singolo polimorfismo di sfondo nucleotide, variabili genetiche.

Abbreviazioni

CRS sintomi correlati a sostanze chimiche
CYP1A1 citocromo 1A1
CYP1A2 citocromo 1A2
CYP2D6 citocromo 2D6
GSTM1 glutatione sulfureo transferase M1
GSTP1 glutatione sulfureo trasferase P1
GSTT1 glutatione sulfureo trasferase T1
MCS sindrome da sensibilità chimica multipla
NAT2 N-acetiltransferase 2
PCR reazione a catena del polimerase
PON1 paraoxonase 1
QEESI Questionario rapido per le esposizione ambientali e sensibilità
RFLP polimorfismo di lunghezza del frammento di restrizione
SCC capacità di sensibilizzazione delle sostanze chimiche
SCE Scambio cromatico d'affinità
SNP singolo polimorfismo nucleotide

Introduzione

Le malattie indotte da sostanze chimiche sono un'entità clinica di origine sconosciuta. Per più di cento anni è stato osservato che le sostanze chimiche, come le droghe e le sostanze usate negli ambienti di lavoro possono produrre reazioni collaterali gravi negli esseri umani. Rehn, è stato il primo scienziato che ha descritto nel 1895 l'importanza delle sostanze chimiche negli ambienti di lavoro come fattori eziologici implicati nello sviluppo dei tumori del tratto genito-urinario (Rehn 1895).

Egli ha identificato l'anilina, sostanza chimica frequentemente usata come causa del cancro alla vescica. Successivamente la contaminazione d'anilina con binaftilamina è stata identificata come un fattore di rischio per lo sviluppo del cancro alla vescica. Un'altra esperienza cruciale è avvenuta nel 1955 quando Hughes e altri hanno descritto le reazioni avverse ai farmaci dopo la terapia nei pazienti di tubercolosi che utilizzando acido isonicotinico di idrazide (Hughes e altri 1955). Contemporaneamente l' N-acetilazione è stata identificata come responsabile di una risposta individuale al farmaco che rende possibile distinguere tra acetilatori lenti e rapidi.

E' stato dimostrato che l'esposizione a tossine, come diossina e altre sostanze chimiche ambientali, sono metabolizzate da enzimi dei geni della Fase I e/o Fase II. Nel 1993 un team di esperti dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha pubblicato la scoperta che questi enzimi sono ' *biomarcatori di suscettibilità... che possono accrescere o diminuire il rischio individuale di sviluppare una seguente risposta d'esposizione tossica ad un agente ambientale. Il polimorfismo è presente per alcuni enzimi d'attivazione/disattivazione metabolica, compreso citocrome degli isoenzimi P-450 e almeno una forma di glutatione transferase. Le diverse percentuali di attività enzimatica che controllano l'attivazione o la disintossicazione delle sostanze xenobiotiche porta a differenze nella suscettibilità, crescendo o diminuendo la dose di agente ambientale biologicamente capace di produrre effetti* (OMS 1993).

Oltre al citocromo P450 e al glutatione sulfureo transferase è stato descritto come geneticamente determinato anche il metabolismo dell'N-acetiltransferase dopo un'esposizione ambientale di basso livello a sostanze cancerogene (Vineis e altri). (1994). Anche altri enzimi, della Fase II del glutatione sulfureo transferase sono stati identificati per essere coinvolti nella disintossicazione delle sostanze chimiche (Hallier e altri). 1993; Hayes e altri. 2000; Seidegard e altri. 1997) e per essere capaci di modificare la predisposizione individuale verso le malattie negli esseri umani. Considerando tutte queste osservazioni insieme, diventa ovvio che i fattori genetici possono influenzare la predisposizione allo sviluppo di sindromi indotte dalle sostanze chimiche, come la sindrome da sensibilità chimica multipla (MCS).

Secondo Cullen (1987) sono stati usati i seguenti criteri per definire i sintomi della sindrome da sensibilità chimica multipla (MCS) (Tabella 1):

Criteri della MCS (Cullen 1987)

- Si acquisisce dopo un evento sanitario specifico in associazione con un'esposizione ambientale
- i sintomi implicano più di un sistema d'organo
- i sintomi ricorrono e si riducono in risposta a stimoli prevedibili
- i sintomi sono suscitati da esposizioni a sostanze chimiche di classi e modi diversi d'azione
- i sintomi si verificano in risposta a bassissimi livelli di sostanze chimiche
- non c'è un test ampiamente disponibile della funzione del sistema d'organo che possa spiegare i sintomi.

Tabella 1 Criteri della MCS

L'incidenza della sensibilità chimica multipla nelle varie popolazioni è ancora sconosciuta. In un campionamento casuale di 1.582 gli individui di Atlanta (Georgia), Caress e Steineman (2003) hanno studiato l'incidenza della sensibilità chimica multipla (MCS). Essi hanno riferito l'ipersensibilità alle sostanze chimiche comuni nel 13.5% del campione. Essi hanno osservato che i progressi tecnologici degli ultimi dieci anni hanno reso possibile introdurre prove rapide e affidabili per la genotipizzazione, cioè nell'area dell'approccio farmacogenetico (Weber 2001); Schmitz e altri. (2001).

Un'ampia gamma di polimorfismi del singolo nucleotide (SNPs) è stato identificato nel genoma fino ad oggi. Molti di questi SNPs sono collocati nei geni che controllano la Fase I e la Fase II portando così ad un'attività enzimatica alterata. La ricerca sulle malattie indotte da sostanze chimiche è importante perché gli studi epidemiologici hanno indicato che la maggior parte delle forme tumorali nell'uomo sono causate originariamente dall'esposizione a lungo termine ad agenti genotossici. Secondo Doll e Peto (1981), dall'80 al 90 % di tutte le forme di cancro sono correlate a fattori ambientali, al fumo di tabacco e alla dieta. È sempre più evidente che le differenze genetiche tra gli individui nella capacità di metabolizzare delle sostanze cancerogene, come gli idrocarburi policiclici aromatici, le ammine aromatiche e i composti nitrosi possono giocare un ruolo primario riguardando la suscettibilità a sviluppare malattie gravi come il cancro (Idle 1991; Nebert 1991). La conoscenza, circa la rilevanza genetica della variabilità metabolica, ha rivelato nuove possibilità per studi focalizzati sulla suscettibilità accresciuta verso il cancro causato dall'ambiente e verso altre malattie influenzate dall'ambiente.

Materiali e metodi

Il concetto di questo studio è stato approvato dalla commissione locale etica, dopo studi pilota (Fabig 2000; 2002) per convalidare un questionario per le sensibilità auto riferite, che è stato sviluppato da Miller e Prihoda (1999). Questo questionario è un approccio standardizzato per misurare le intolleranze chimiche per applicazioni di ricerca e cliniche, denominato QEESI (inventario veloce di esposizione e di sensibilità ambientale). Tutti i pazienti dal gennaio 2000, alla data 31.12.2003, 2.746 individui, sono stati invitati a rispondere a questo questionario. Il QEESI modificato contiene, come l'originale statunitense, cinquanta voci circa la qualità, l'intensità, la durata, la localizzazione e la modificazione dei sintomi associati con l'esposizione chimica ambientale.

1.143 individui hanno risposto al questionario senza alcuna influenza o assistenza medica. Un obiettivo di questo studio era analizzare i punteggi delle voci QEESI, nei quali si valuta la sensazione personale della propria capacità di "sensibilizzazione alle sostanze chimiche" (Tabella 2):

Per favore indicate se questi odori o queste esposizioni vi farebbero sentire ammalati.....	NESSUN PROBLEMA (0)	MODERATI SINTOMI (1)	DISABILITANTI SINTOMI (2)
1. Gas di scarico dei motori o diesel			
2. Fumo di tabacco			
3. Insetticidi			
4. Benzina			
5. Vernici o solvente per vernici			
6. prodotti di pulizia come disinfettanti, varechina, detersivi per il bagno o pavimenti			
7. Certi profumi, deodoranti per l'aria, e altre fragranze			
8. Catrame e asfalto fresco			
9. Smalto per unghie e solvente per unghie, o spray per capelli			
10. Nuovi mobili come nuova stoffa per tappeti, una nuova tenda da doccia di plastica morbida o l'interno di una nuova macchina			

Tabella 2 Condizioni di punteggio e voci per misurare le capacità sensibilizzanti delle sostanze chimiche (SCC)

I sintomi correlati a sostanze chimiche (CRS) dei pazienti erano collegati alla testa, muscoli, neuromuscolari, cognitivi, gastrointestinali, ecc. (Tabella 3).

I riepiloghi dei punteggi CRS della fluttuazione individuale oscillano, in analogia al punteggio SCC da zero (nessun sintomo) a 20 (massimo dei sintomi) indicano che non sono stati mostrati in uno studio successivo.

Sintomi correlati alle sostanze chimiche (CRS)
1. Muscoloscheletrici
2. Correlati alle vie respiratorie
3. Correlati al cuore/ torace
4. Gastrointestinale
5. Cognitivi
6. Affettivi
7. Neuromuscolari
8. Correlati alla testa
9. Correlati alla pelle
10. Correlati con le mucose

La tabella 3 - Sintomi correlati alle sostanze chimiche (CRS)

861 delle 1.143 persone, che hanno dato il consenso informato per la genotipizzazione degli enzimi della Fase I e Fase II nel loro metabolismo delle sostanze xenobiotiche. Il sangue EDTA è stato inviato al biologo molecolare, che ha isolato il DNA dal sangue EDTA come descritto da Lahiri e da Nürnbergger (1991) o usando il mini Kit QIAamp DNA Blood. La genotipizzazione è stata eseguita in tutti i pazienti per l'N-acetyltransferase 2 (NAT2), il glutathione sulfureo transferase M1 (GSTM1) e il glutathione sulfureo transferase T1 (GSTT1). Dott. E. Schnakenberg ha descritto la sua parte così (comunicazione personale): "*Dopo l'estrazione del DNA il gene dell'N-acetyltransferase 2 è stato amplificato come descritto precedentemente (Schnakenberg e altri 2000). Sono stati analizzati in tutti gli individui i polimorfismi del singolo nucleotide (SNPs) nt 481, nt 590 e nt 857 del gene N-acetyltransferase usando il RFLP o il PCR in tempo reale. Secondo la nomenclatura di Vatsis e altri (1995) è stato sviluppato un modello di allele semplificato. Il polimorfismo nt 481 del singolo nucleotide è una mutazione guida che riflette gli alleli NAT2*5A e NAT2*5B. L'allele raro NAT2*5C non è stato identificato con questa procedura. Questi singoli polimorfismi del singolo nucleotide portano a quattro modelli di allele del NAT2 che possono predire il*

fenotipo di acetilatore con una accuratezza di oltre il 95 % per l'acetilatore lento e rapido (Blum e altri 1991).

"L'individuazione della delezione del gene M1 e/o T1 glutatione sulfureo transferase M1 è stata eseguita con il PCR multiplo come descritto precedentemente".

Nella tabella 4 sono mostrati i substrati principali e le abbreviazioni (simboli utilizzati in questo studio) delle variabili genetiche.

NAT 2	GSTM1	GSTT1
Tipo di Substrato: Benzidine	Tipo di Substrato: Benz (a) pirene	Tipo di Substrato: Dicloroetano
gruppo di substrato: ammine aromatiche	gruppo di substrato: analogo del substrato	gruppo di substrato: Mono -Di-Alo-metano
utilizzato simboli di variabilità genetica		
NO: Acetilatore lento	M0: Gene GSTM1-deficenza	T0: Gene GSTT1-deficenza
N1: Acetilatore rapido	M1: GSTM1-sequenze espresse, x)	T1: GSTT1- sequenze espresse

Tabella 4 Principali substrati e abbreviazioni utilizzate delle variazioni genetiche studiate

343 individui, che hanno risposto al questionario e 61 individui con genotipizzazione sono stati esclusi dallo studio, perché erano caucasici o d'età inferiore ai 20 anni o maggiore di 90 o perché avevano avuto una storia di malattia psichiatrica e/o neurologica, che potevano essere accusati come elementi di confusione nello studio della MCS.

Dati e analisi statistica

Le statistiche sono state eseguite utilizzando la versione 10.0 del software SPSS. Il calcolo delle percentuali con un intervallo di confidenza del 95 % è stato eseguito per analizzare l'associazione tra la sensibilità chimica auto-riferita e i polimorfismi del singolo nucleotide. Per valutare la significatività delle associazioni, sono state usate la correlazione di Pearson (chi square), il test esatto di Fischer e la regressione logistica.

Risultati

Dati demografici

Il gruppo di studi è formato da 447 femmine (il 56%) e 353 individui maschi. I dati d'età mostrano un intervallo d'età da 40 a 70 anni. L'età media era 52.1 (\pm 14.6) e la media 52.6 anni. I gruppi d'età e i generi non erano significativamente (Chi-Quadrat-Test 0.07; figura 1).

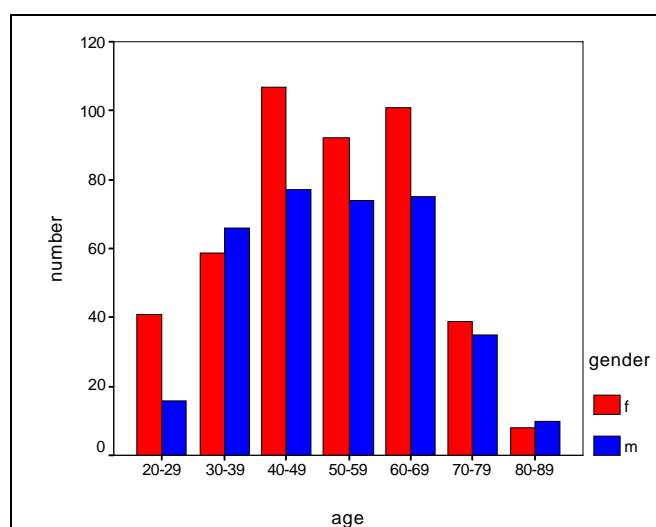


Figura 1 Età dei gruppi e genere (N=800)

Dati genotipizzati

Nella tabella 5 vengono mostrate le frequenze di genotipizzazione del NAT2, di GSTM1 e di GSTT1.

NAT 2 - rapido	N	percentuale	NAT2 - lento	N	percentuale
4/4	71	8.9	5/5	168	21.0
4/5	161	20.1	5/6	217	27.1
4/6	94	9.4	5/7	12	1.5
4/7	9	1.1	6/6	64	8.0
			6/7	4	0.5
N-acetilatore rapido	335	41.9	N-acetilatore lento	465	58.1
GSTM1 * 1/*1	380	47.5	GSTM1 * 0/*0	420	52.5
GSTT1 * 1/*1	664	83.0	GSTT1 * 0/*0	136	17.0

Tabella 5 Frequenze di NAT2-, variabili genetiche GSTM1-e GSTT1.

- La prevalenza di N-acetilatori lenti in uno studio validato di Cascorbi (e altri 1995) in Germania era del 58.9%. In conformità a queste scoperte la frequenza d'acetilatori lenti nello studio attuale era il 58.1%.
- Le carenze del gene GSTM1 sono state individuate nel 53.5% delle 416 persone bianche degli US (Chen 1996). Nello studio attuale il genotipo GSTM1 * 0/*0 è stato trovato con una percentuale del 52.2 per cento.
- Bruhn (e altri 1998) hanno riportato, in uno studio validato (140 tedeschi senza malattia), la carenza del gene GSTT1 nel 19.3 per cento di tutti i casi. Frequenze minori di questo genotipo sono state analizzate in americani statunitensi bianchi: 14.7 per cento secondo Wourmhoudt (1999). Nello studio attuale la frequenza nei non coniugati del GSTT1 era del 17.0 per cento.

Riassumendo questi risultati si può dire che il gruppo di studio è molto rappresentato per lo scopo di studiare le frequenze di queste variabili genetiche (Hirvonen 1993). Perciò, anche le combinazioni aritmetiche di queste variabili genetiche sono rappresentative per i caucasici (tabella 6).

Combinazioni delle variabili genetiche	N	percentuale
N1*M1*T1	138	17.3
N1*M1*T0	23	2.9
N1*M0*T1	144	18.0
N1*M0*T0	30	3.8
N0*M1*T1	181	22.6
N0*M0*T1	202	25.3
N0*M1*T0	39	4.9
N0*M0*T0	43	5.4

Tabella 6 Frequenze delle combinazioni delle variabili genetiche NAT2-, GSTM1-e GSTT1- (N=800)

Dati Psicometrici

La figura 2 mostra le frequenze della somma dei punteggi della capacità riportata di sensibilizzazione delle sostanze chimiche (SCC). Il punteggio individuale minimo era zero (nessun problema di sensibilità per sostanza chimica), il massimo individuale era una somma di punteggio di 20 punti (= grave sensibilità a tutte le sostanze chimiche proposte). La media di tutti i punteggi SCC era di 9.5 punti (± 5.6).

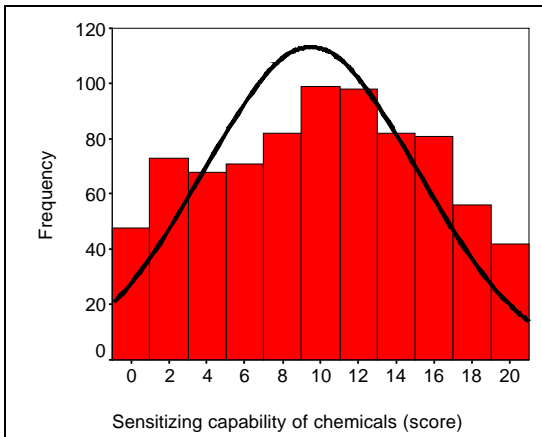


Figura 2 Frequenza delle somme dei punteggi della capacità sensibilizzante delle sostanze chimiche (N=800)

La media dei punteggi dei sintomi correlati a sostanze chimiche (SCC) nelle donne era di $10.2 (\pm 5.6)$, la mediana 10.0. I maschi avevano una mediana non significativamente più bassa di $8.6 (\pm 5.6)$ e una mediana di 9.0 (Figura 3).

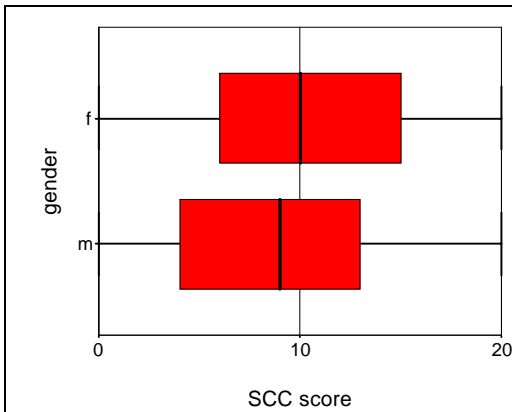


Figura 3 Genere e punteggi dei sintomi correlati a sostanze chimiche (SCC)

Le generazioni inferiori a 40 anni riportano una capacità inferiore di sensibilità chimica. I più anziani (oltre 70 anni) lo stesso. La regressione lineare del punteggio dei SCC con l'indice di massa corporea non mostrava alcuna correlazione ($R=0.006$). I non fumatori riportavano punteggi più alti dei SCC di coloro che usano nicotina (la media dei SCC era 7.8 ± 5.1 ; la media 8.0). I primi sembravano essere più sensibili dei fumatori (media dei SCC 10.3 ± 5.7 ; mediana 10.0; figura 4).

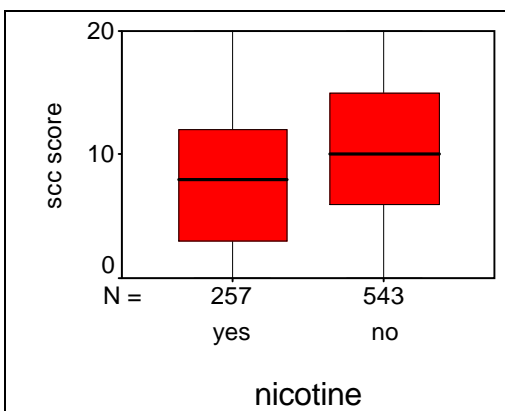


Figura 4 Utilizzatore di nicotina e punteggi SCC (N=800)

Sensibilità a sostanza chimica o miscela	Per nulla un problema	Moderati sintomi	Disabilitanti sintomi
1. Gas di scarico dei motori o diesel	188	403	209
2. Fumo di tabacco	180	397	223
3. Insetticidi	258	334	208
4. Benzina	196	377	227
5. Vernici o solvente per vernici	143	343	314
6. prodotti di pulizia come disinfettanti, varechina, detersivi per il bagno o pavimenti	292	346	162
7. Certi profumi, deodoranti per l'aria, e altre fragranze	257	340	203
8. Catrame e asfalto fresco	328	339	133
9. Smalto per unghie e solvente per unghie, o spray per capelli	253	355	192
10. Nuovi mobili come nuova stoffa per tappeti, una nuova tenda da doccia di plastica morbida o l'interno di una nuova macchina	351	287	162

Tabella 7 sensibilità a sostanze chimiche e risposte (N=800)

E' stato analizzato con la regressione logistica, con la somma di 800 nel punteggio della sensibilità alle sostanze chimiche riportate, che erano correlate alla prestabilita classificazione di MCS o non MCS (criteri di Cullen).

I risultati (numeri e percentuali) sono stati mostrati nella tabella 8.

Osservato	Predetto		Percent correct
	MCS	No MCS	
MCS	365	45	89.0
No MCS	49	341	87.4
total			88.3

Table 8 Results of logistic regression combining MCS and SCC scores (N=800)

La sensibilità di utilizzare punteggi SCC nel rilevare MCS era di 89.0 per cento. La specificità del metodo SCC era dell'87.4 per cento. Nella curva di ROC (Receiver Operating Characteristics) sensibilità e specificità erano combinate (figura 5).

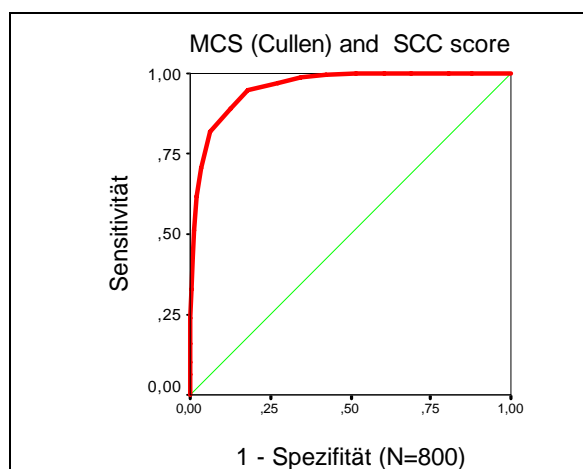


Figura 5 MCS (criteri di Cullen) e punteggio dei SCC dal QEESI modificato (N=800)

Controllo di casi combinando i dati genotipizzati e quelli psicometrici.

Sono state analizzate, le relazioni tra i polimorfismi del singolo nucleotide con dicotomia e le gradualità nei questionari dopo aver escluso le risposte "sintomi moderati". I casi erano 800 individui con la risposta "sintomi diasabilitanti" da contatto con sostanze chimiche. I controlli erano scelti casualmente dall'intero gruppo di studi. I risultati nelle relazioni alle varianti del NAT2, GSTM1 e GSTT1 sono mostrati nelle tabelle 9a, 9b e 9c.

Variabili genetiche del N-acetiltransferase	Disabilitanti sintomi			Per nulla un problema			Acetilatore lento	
	N0	N1	Som	N0	N1	Som	OR	95% CI
Sensibilità alla sostanza chimica o miscela								
1. Gas di scarico dei motori o diesel	137	72	209	40	59	99	2.8	1.7-4.7
2. Fumo di tabacco	150	73	223	40	56	96	2.9	1.7-4.9
3. Insetticidi	148	60	208	48	77	125	3.9	2.4-6.5
4. Benzina	151	76	227	36	61	97	3.8	2.0-5, .7
5. Vernici o solvente per vernici	209	105	314	31	43	74	2.7	1.6-4.8
6. prodotti di pulizia come disinfettanti, varechina, detersivi per il bagno o pavimenti	113	49	162	65	84	149	5.3	3.3-8.5
7. Certi profumi, deodoranti per l'aria, e altre fragranze	139	64	203	62	77	139	2.7	1.7-4.3
8. Catrame e asfalto fresco	89	44	133	68	2.9	166	2.9	1.8-4.8
9. Smalto per unghie e solvente per unghie, o spray per capelli	129	63	192	53	75	128	2.9	1.8-4.7
10. Nuovi mobili come nuova stoffa per tappeti, una nuova tenda da doccia di plastica morbida o l'interno di una nuova macchina	111	51	162	90	101	191	4.6	3.0-7.0

Tabella 9a NAT2 e sensibilità a sostanze chimiche. Numero di casi, controlli casuali e OR.

Variabili genetiche del glutatione-sulfureo-transferase M1	Disabilitanti sintomi			Per nulla un problema			GSTM1 * 0/*0	
	N0	N1	Som	N0	N1	Som	OR	95% CI
Sensibilità alla sostanza chimica o miscela								
1. Gas di scarico dei motori o diesel	141	68	209	32	67	99	4.3	2.5-7.5
2. Fumo di tabacco	151	72	223	39	57	96	3.0	1.8-5.2
3. Insetticidi	132	76	208	46	79	125	3.0	1.8-4.9
4. Benzina	148	79	227	34	63	97	3.5	2.1-5.9
5. Vernici o solvente per vernici	198	116	314	24	50	74	3.6	2.0-6.3
6. prodotti di pulizia come disinfettanti, varechina, detersivi per il bagno o pavimenti	106	56	162	51	98	149	3.6	2.2-6.0
7. Certi profumi, deodoranti per l'aria, e altre fragranze	136	67	203	54	85	139	3.2	2.0-5.1
8. Catrame e asfalto fresco	90	43	133	61	105	166	5.7	3.5-9.4
9. Smalto per unghie e solvente per unghie, o spray per capelli	123	69	192	45	83	128	3.3	2.0-5.4
10. Nuovi mobili come nuova stoffa per tappeti, una nuova tenda da doccia di plastica morbida o l'interno di una nuova macchina	96	66	162	83	108	191	3.4	2.2-5.1

Tabella 9b GSTM1 e sensibilità a sostanze chimiche. Numero di casi, controlli casuali e OR.

Variabili genetiche glutation-sulfureo-transferase T1	Disabilitanti sintomi			Per nulla un problema			GSTT1 * 0/*0	
	N0	N1	Som	N0	N1	Som	OR	95% CI
Sensibilità alla sostanza chimica o miscela								
1. Gas di scarico dei motori o diesel	141	68	209	4	95	99	9.3	3.1-31
2. Fumo di tabacco	151	72	223	6	90	96	4.8	1.9-13
3. Insetticidi	132	76	208	9	116	125	2.6	1.1-5.9
4. Benzina	148	79	227	4	93	97	8.2	2.7-27
5. Vernici o solvente per vernici	198	116	314	4	70	74	5.0	1.7-17
6. prodotti di pulizia come disinfettanti, varechina, detersivi per il bagno o pavimenti	106	56	162	13	136	149	3.4	1.7-7.1
7. Certi profumi, deodoranti per l'aria, e altre fragranze	136	67	203	10	129	139	3.5	1.6-7.7
8. Catrame e asfalto fresco	90	43	133	18	148	166	2.6	1.3-5.1
9. Smalto per unghie e solvente per unghie, o spray per capelli	123	69	192	13	115	128	3.0	1.5-6.2
10. Nuovi mobili come nuova stoffa per tappeti, una nuova tenda da doccia di plastica morbida o l'interno di una nuova macchina	96	66	162	25	116	191	1.7	1.0-3.2

Tabella 9c GSTT1 e sensibilità a sostanze chimiche. Numero di casi, controlli casuali e OR.

La tabella 10 mostra, le variabili genetiche, casi con SCC 10-20 o con SCC 0-9 e percentuali individui senza sequenze espresse di variabili genetiche dopo la scelta casuale del gruppo di controllo.

Geni della Fase II con 2 SNPs	Gruppo di punteggi SCC 10-20			Gruppo di punteggi SCC 0-9			Non frequenze espresse Variabili	
	N0	N1	som	N0	N1	som	OR	95%-CI
NAT2	291	124	415	104	108	212	2.4	1.7-3.9
GSTM1	238	132	415	74	138	212	4.0	2.8-5.8
GSTT1	91	324	415	29	183	212	1.8	1.1-2.9

La tabella 10 Ipersensibilità (percentuali) in individui senza variabili genetiche di sequenze espresse.

Tutti i tre rapporti erano più alti di 1.0 e il loro intervallo di confidenza del 95% non includeva mai il 1.0. Questi dati vengono mostrati nella figura 6.

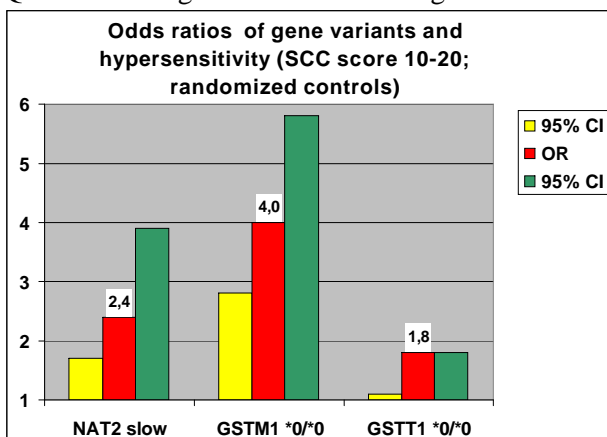


Figura 6 rapporti percentuali di ipersensibilità a sostanze chimiche in individui con N-acetilazione lenta o con genotipi GSTM1-o GSTT1- * 0/*0.

Le medie di 800 punteggi SCC rispetto alle combinazioni delle otto variabili genetiche sono state mostrate nella figura 7.

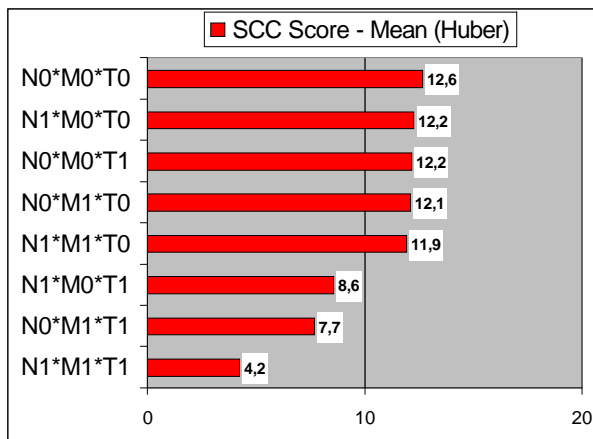
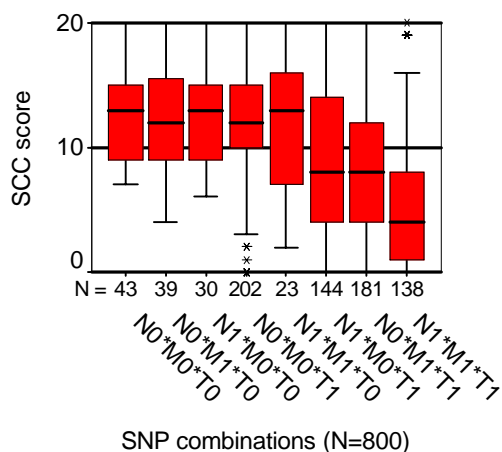


Figura 7 Combinazioni delle varianti genetiche e delle medie dei punteggi SCC (N=800)

La sensibilità chimica aveva il punteggio più basso, quando le variabili genetiche delle sequenze espresse erano combinate. Le sensibilità avevano il punteggio più alto, quando i genotipi di sequenza non referente erano combinati. Il genotipo GSTT1 * 0/*0 sembrava essere correlato con gli individui più sensibili (nello sfondo).

Mediane e quartili del punteggio dei SCC in correlazione alle combinazioni di variabili genetiche dimostrano un'immagine simile (figura 8).



La figura 8 Punteggi dei sintomi correlati a sostanze chimiche (SCC) (box&whiskers) e combinazioni delle variabili genetiche (N=800)

La prevalenza d'ipersensibilità nello sfondo era del 18.4 per cento, l'ipersensibilità successiva ad elevata esposizione era del 32.9% (Chi-Quadrat $p < 0.000$). Il 15.6% di coloro che erano esposti non erano sensibili alle sostanze chimiche. Il 33.1 per cento del gruppo di studio non erano stati né esposti né sensibili.

		ESPOSIZIONE		
IPERSENSIBILITA'		Elevato	Sottofondo	Somma
SI	N	263	147	410
	% di 800	32.9	18.4	51.3
NO	N	125	265	390
	% di 800	15.6	33.1	48.8
Somma	N	388	412	800
	% di 800	48.5	51.5	

La tabella 11 Numeri e prevalenze di esposizioni a sensibilità (N=800)

Conclusione

Le ipersensibilità sono causate da esposizioni attuali o passate a sostanze chimiche o di sottofondo o in speciali situazioni o condizioni. Uno studio su casi o gruppi di controlli di casi con 800 individui ha riportato sensibilità individualmente diverse e ha documentato la "capacità di sensibilizzazione delle sostanze chimiche" (SCC). Sono state genotipizzate 2400 variabili di gene del NAT2, GSTM1 e GSTT1, che sembravano essere probabilmente tre dei geni più importanti nel metabolismo xenobiotico.

I risultati mostrano significative suscettibilità diverse, che sono causate da varie proprietà genetiche specifiche. Le percentuali più alte d'ipersensibilità (punteggio SCC più alto) erano correlate al genotipo GSTM1 * 0/*0 (OR 4.0). L'OR del genotipo GSTT1 * 0/*0 era di 1.8 (1.1-2.9). Il rischio di lenta N-acetilazione era di 2.4 (1.7-3.9). I dati attuali (inediti) mostrano quello anche i polimorfismi del singolo nucleotide (SNPs) dei geni Paraoxonase 1 (PON1), l'Epoxididrolase (mEH) e i Citocromi (CYPs), ecc. sono fattori che contribuiscono nelle sensibilità chimiche.

Tuttavia, le varianti genetiche rispetto ai polimorfismi del singolo nucleotide (SNPs) non sono una causa sufficiente d'ipersensibilità. Le variabili genetiche, sono fattori eziologici che contribuiscono, modificando solo gli effetti tossici delle esposizioni chimiche. Le persone nello studio che avevano subito esposizioni pesanti nello studio mostravano una prevalenza d'ipersensibilità del 32.9 per cento. La prevalenza dell'ipersensibilità negli individui esposti nello sfondo era del 18.4 per cento.

Le variabili genetiche analizzate hanno, secondo le strutture analoghe studiate nella farmacologia, una posizione evolutiva relativamente stabile. In antichità questi erano stati generati per metabolizzare le sostanze tossiche e biochimiche nella vita naturale. Le creature viventi nell'ultimo secolo o negli ultimi decenni sono state sempre più stressate da substrati multipli antropogeni (prodotti dall'uomo). Sembra allarmante, che gli individui in un ambiente comune con "un sottofondo normale" d'esposizione e senza malattie riportano più effetti di sensibilità alle sostanze chimiche, se possiedono solo certe combinazioni di tre variabili genetiche. Perciò sembra opportuno che il progetto di legge REACH debba non solo regolare e valutare le sostanze CMR (cancerogene, mutagene e reprotossiche) e le sostanze con caratteristiche POP (persistenti inquinanti organici), ma anche stabilire le condizioni di specifiche licenze (autorizzazioni) per tutte le sostanze chimiche. Inoltre, abbiamo bisogno di individuare le proprietà neurotossiche dei substrati lipofilici, che sono fattori di rischio per lo sviluppo di encefalopatie tossiche (TE). Il fattore di rischio per le encefalopatie tossiche (TE) in uomini esposti a solventi era più elevato nei casi di carenza del gene GSTM1 (Soderkvist 1996).

Comprendere l'ipersensibilità, probabilmente come un effetto non voluto delle precedenti economie e gestione del rischio, il processo europeo REACH ha bisogno di una carica di genotipizzazione e di analisi della capacità di sensibilizzazione delle sostanze chimiche, prima che le sindromi di Sensibilità Chimica Multipla (MCS) crescano da disabilità a malattia.

x)N.d.T. definite in una banca di cDNA e utilizzate come marcatori per la mappatura del DNA genomico

Indirizzo:

Karl-Rainer Fabig, Immenhöfen 19, D-22417 Hamburg, Fax 049-40-53047272, E-mail:

arztpraxis@fabig.org

Letteratura

- Blum M, Demierre A, Grant DM, Heim M, Meyer UA. 1991. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 5237-5241.
- Bruhn C, Brockmoller J, Kerb R, Roots I, Borchert HH. 1998. Concordance between enzyme activity and genotype of glutathione S-transferase theta (GSTT1). *Biochem Pharmacol*;56(9): 1189-93
- Caress SM, Steinemann AC. 2003. A Review of a Two-Phase Population Study of Multiple Chemical Sensitivities. *Environ Health Perspect* 111 (12): 1490-1497
- Cartwright RA, Glashan RW, Rogers HJ, Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmoller J, Maurer A, Sperling K, Roots I. 1995). Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity. *Am. J. Hum. Genet.* 57: 581-592.
- Chen CL, Liu Q, Relling MV. 1996. Simultaneous characterization of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms by polymerase chain reaction in American whites and blacks. *Pharmacogenetics* 6: 187-191.
- Doll R, Peto R. 1981. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* 66: 1191-1308.
- Fabig K-R. 2000. Das Multiple Chemikalien-Sensitivität-Syndrom (MCS). Können Fragebögen, IgE und SPECT zur Diagnostik beitragen? *Hamburger Ärzteblatt* 12:600-603.
- Fabig K-R. 2002. Die Auslösung chemikalien-assoziiierter Symptome und Befunde der NAT2, GSTM1 und GSTT1 bei 603 Personen. *Umweltmed Forsch Prax* 7(4): 226-227.
- Hallier E, Langhof T, Dannappel D, Leutbecher M, Schröder K, Goergens HW, Müller A, Bolt HM. 1993. Polymorphism of glutathione conjugation of methyl bromide, ethylene oxide and dichloromethane in human blood: influence on the induction of sister chromatid exchanges (SCE) in lymphocytes. *Arch Toxicol* 67: 173-178.
- Hayes JD, Strange RC. 2000. Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology* 61: 154-166.
- Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Vainio H. 1993. The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* 14: 1479-1481.
- Hughes HB, Schmidt LH, Biehl JP. 1955. The metabolism of isoniazid: Its implications in therapeutic use. *Trans Conf Chemother Tuberc* 14: 217-222.
- Idle JR. 1991. Is environmental carcinogenesis modulated by host polymorphism? *Mutat Res* 247: 259-266.
- Lahiri DK, Nürnberger JI. 1991. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucl Acids Res* 19: 5444.
- Little AD. 2004. New Proposals for Chemicals Policy: Effects on the competitiveness of the Chemical industry". Project EP/IV/A/2003/07/03-2.
- Miller C, Prihoda T. 1999. The environmental exposure and sensitivity inventory (EESI): a standardized approach for measuring chemical intolerances for research and clinical applications. *Toxicol Ind Health* 15: 370-385.
- Nebert DW. 1991. Identification of genetic differences in drug metabolism: Prediction of individual risk of toxicity or cancer. *Hepatology* 14: 398-401.
- Rehn L. 1895. Über Blasentumoren bei Fuchsinarbeitern. *Arch Klin Chir* 50: 113.
- Risch A, Wikman H, Thiel S, Schmezer P, Edler L, Drings P, Dienemann H, Kayser K, Schulz V, Spiegelhalder B, Bartsch H. 2001. Glutathione S-transferase M1, M3, T1 and P1 polymorphisms and susceptibility to non-small cell lung cancer subtypes and hamartomas. *Pharmacogenetics* 11: 757-764.
- Schmitz G, Aslanidis C, Lackner KJ. 2001. Pharmacogenomics : Implications for laboratory medicine. *Clin Chim Acta* 308: 43-53.
- Schnakenberg E, Lustig M, Breuer R, Werdin R, Hübotter R, Dreikorn K, Schloot W. 2000. Gender-specific effects of NAT2 and GSTM1 in bladder cancer. *Clin Genet* 57: 270-277.
- Seidegard J, Ekström G. 1997. The role of human glutathione S-transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect* 105: 791-799.
- Soderkvist P, Ahmadi A, Akerback A, Axelson O, Flodin U. 1996. Glutathione S-transferase M1 null genotype as a risk modifier for solvent-induced chronic toxic encephalopathy. *Scand J Work Environ Health*. 22(5): 360-3.
- Vatsis KP, Wendell WW, Bell DA, Dupret JM, Evans DAP, Grant D, Hein DW, Lin HJ, Meyer UA, Relling MV, Sim E, Suzuki T, Yamazoe Y. 1995. Nomenclature for N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 5: 1-17.
- Vineis P, Bartsch H, Caporaso N, Harrington AM, Kadlubar FF, Landi MT, Malaveille C, Shields PG, Skipper P, Talaska G, Tannenbaum SR. 1994. Genetically based N-acetyltransferase metabolic polymorphism and low-level environmental exposure to carcinogens. *Nature* 369: 154-156.

Weber WW. 2001. Effect of pharmacogenetics on medicine. *Environ Mol Mutagen* 37: 179-184.
World Health Organization. 1993. International programme on chemical safety, Environmental Health Criteria 155. Biomarkers and risk assessment: Concepts and principles.
Wourmhoudt LW, Commandeur JN, Vermeulen NP. 1999. Genetic polymorphism of human N-Acetyltransferase, cytochrom P450, glutathione-S-transferase, and epoxide hydrolases enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. *Crit Review Toxicol* 29: 59-127.

Original (English): <http://www.safer-world.org/e/disease/MCS/fabig.htm>

contatti: info@safer-world.org

Copyright© 1998-2005 SAFER WORLD.