



## **Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi: spunti per un'azione didattica**

a cura di

Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Maria Rossi  
Settore Attività Editoriali - Servizio Informatico,  
Documentazione, Biblioteca ed Attività Editoriali



Istituto Superiore di Sanità  
Roma 2007





## **Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi: spunti per un'azione didattica**

a cura di

Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Maria Rossi  
*Settore Attività Editoriali - Servizio Informatico, Documentazione,  
Biblioteca ed Attività Editoriali*

Istituto Superiore di Sanità  
Roma 2007

Istituto Superiore di Sanità

**Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi: spunti per un'azione didattica**

A cura di Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Maria Rossi

2007, p. 166

Questa pubblicazione conclude il progetto "Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi. Un progetto di collaborazione tra scuole e istituti di ricerca", rivolto a studenti e a professori della scuola secondaria di primo e secondo grado. La proposta didattica promossa dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), in riferimento alla legge 6/2000 per la diffusione della cultura scientifica, si è svolta nell'anno scolastico 2005-2006. Il fascicolo è stato redatto a seguito di corsi di aggiornamento incentrati sui rischi e sugli effetti per la salute e per l'ambiente associati all'esposizione a sostanze tossiche, e raccoglie le lezioni svolte dai ricercatori impegnati nel progetto insieme alle schede che descrivono, dal punto di vista speculare degli insegnanti e dei ragazzi, alcune esperienze emblematiche di lavoro in classe su questi temi.

**Chemicals, the environment and us: hints for an educational action**

Edited by Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro and Anna Maria Rossi

2007, p. 166

This publication concludes the project "Chemicals, the environment and us: a joint action between schools and research institutes" addressed to middle and high school students and teachers, being promoted by the Italian National Institute of Health, supported by the Italian Ministry of University and Research. The volume is published after training of teachers both in scientific topics, especially those concerning the relationships between chemicals in the environment and human health, and in teaching methods based on active/cooperative learning. Furthermore, the publication also collects and presents materials produced at school by the teachers guiding their students to practice self-centred learning in reference to the above mentioned issues, and by the students themselves about experiencing at school the newly applied teaching methodology.

*Redazione:* Giovanna Morini e Laura Radiciotti, Settore Attività Editoriali, Servizio Informatico, Documentazione, Biblioteca ed Attività Editoriali (SIDBAE), ISS

*Illustrazioni e progetto grafico:* Cosimo Marino Curianò, Settore Attività Editoriali, SIDBAE, ISS

La pubblicazione è stata realizzata grazie al contributo ottenuto in riferimento alla legge n. 6/2000 per la diffusione della cultura scientifica.

Per commenti/informazioni sulla dispensa rivolgersi a: [cecilia.bedetti@iss.it](mailto:cecilia.bedetti@iss.it)

## L'Istituto Superiore di Sanità si presenta

L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) è il più importante ente di ricerca per la salute pubblica in Italia<sup>1</sup>. Il suo compito è dare risposte a problemi sanitari rilevanti per il Paese con l'obiettivo principale di contribuire allo sviluppo e alla tutela delle condizioni di salute della popolazione. Organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale, esso è organizzato in:

- sette Dipartimenti: Ambiente e connessa prevenzione primaria; Sanità alimentare ed animale; Malattie infettive, parassitarie ed immunomediate; Farmaco; Biologia cellulare e neuroscienze; Ematologia, oncologia e medicina molecolare; Tecnologie e salute;
- quattro Centri nazionali: AIDS per la patogenesi e vaccini contro HIV/AIDS; Epidemiologia, sorveglianza e promozione della salute; Qualità degli alimenti e rischi alimentari; Trapianti;
- due Servizi tecnico-scientifici: Biologico e per la gestione della sperimentazione animale; Informatico, documentazione, biblioteca ed attività editoriali.

Dette denominazioni danno un'idea dell'ampia gamma di temi dei quali l'ISS si occupa svolgendo attività molto diverse: ricerca, sperimentazione, sorveglianza, controllo, consulenza, documentazione e formazione. La tipologia dell'intervento varia, infatti, in base allo specifico problema affrontato e al grado delle conoscenze disponibili in merito. Per chiarirne le ragioni si riportano di seguito alcuni esempi.

Nel campo delle patologie, le cui cause e meccanismi che le producono non siano ancora sufficientemente chiariti e, di conseguenza, siano carenti terapie efficaci, come avviene ad esempio per alcune forme di tumore e per molte malattie, l'Istituto promuove ricerche volte all'acquisizione di conoscenze di base e alla sperimentazione di strategie terapeutiche mirate.

Per altre aree di patologie per le quali i rimedi sono sufficientemente sviluppati, ad esempio per molte malattie infettive, l'Istituto promuove programmi di azione mirati al monitoraggio dei vari tipi di intervento, ad esempio la valutazione di campagne di vaccinazione.

Nella prevenzione di molte malattie la valutazione degli effetti nocivi conseguenti all'esposizione a svariati agenti fisici e chimici ambientali rappresenta un aspetto chiave. In questo ambito l'attività svolta dall'ISS è anche consultiva: fornisce in specifiche commissioni valutazioni approfondite e aggiornate agli organismi che hanno le responsabilità a livello europeo e nazionale di decidere gli opportuni provvedimenti volti a eliminarne o a ridurne la presenza. Un altro esempio della molteplicità di intervento riguarda le attività di controllo delle nuove sostanze chimiche immesse nell'ambiente: l'Istituto ne valuta le caratteristiche per identificare i vari tipi di rischi e definire i modi più efficaci per abatterli.

Alla prevenzione l'ISS dedica un particolare interesse e impegno anche attraverso la formazione e l'informazione, sia su problemi che riguardano tutta la popolazione (corretti stili di vita, screening), sia attraverso iniziative indirizzate a particolari gruppi o a determinate situazioni di rischio. Una descrizione completa della struttura e dell'attività dell'ISS è disponibile online all'indirizzo (<http://www.iss.it>).

<sup>1</sup>Un interessante contributo sulla storia dell'Istituto è stato pubblicato in questa stessa collana a firma di Giorgio Bignami "Fondazione e sviluppo dell'Istituto Superiore di Sanità" nel volume *L'Istituto Superiore di Sanità e la tutela della salute. Roma, 26 marzo e 9 aprile 2001*, disponibile online all'indirizzo <http://www.iss.it/binary/publ/cont/scienza.1169118857.pdf>.



## INDICE

Le scienze a scuola: una proposta di modulo didattico in tossicologia <i>Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Maria Rossi</i>	pag.	1
Costruzione di conoscenza in classe: la teoria e la pratica <i>Milena Bandiera</i>	pag.	10
Introduzione alla tossicologia <i>Emanuela Testai</i>	pag.	32
Test di tossicità e di mutagenicità <i>Chiara Micolonghi</i>	pag.	45
Relazioni tra la struttura chimica e l'attività tossica di mutageni e cancerogeni <i>Romualdo Benigni</i>	pag.	49
Classificazione di una sostanza chimica e guida alla lettura delle etichette di pericolo <i>Paola Di Prospero Fanghella</i>	pag.	56
Agenti mutageni e/o cancerogeni ambientali <i>Riccardo Crebelli</i>	pag.	63
Ambiente e stile di vita nel processo di cancerogenesi <i>Margherita Bignami</i>	pag.	71
Danno al DNA e suscettibilità interindividuale <i>Eugenia Dogliotti</i>	pag.	82
Le micotossine nella filiera agroalimentare: informazioni generali e impatto sulla salute dell'uomo e degli animali <i>Marina Miraglia, Francesca Debegnach, Elena Pannunzi e Carlo Brera</i>	pag.	91
I contaminanti nell'ambiente: distribuzione, effetti e rischio per gli organismi <i>Silvia Marchini</i>	pag.	107
La fabbrica della conoscenza scientifica <i>Alessandro Giuliani</i>	pag.	121

## ***I LAVORI DELLE SCUOLE***

Alcuni percorsi didattici <i>Silvia Giannella</i>	pag.	133
L'alta velocità in Val di Susa: un problema ambientale o geopolitico? <i>Liceo Classico "Virgilio", Roma</i>	pag.	137
Il fumo di sigaretta <i>Liceo Classico "Virgilio", Roma</i>	pag.	141
Siediti e ragiona: la chimica e le sostanze pericolose <i>Istituto Tecnico per le Attività Sociali "Sandro Pertini", Campobasso</i>	pag.	145
Non c'è solo DDT <i>Liceo Classico "Ruggero Settimo", Caltanissetta</i>	pag.	149
Le sostanze chimiche intorno a noi: rischi per la nostra salute <i>IPSSA "Rosario Livatino", Mazzarino (Caltanissetta) IIS "Angelo Di Rocco", Caltanissetta</i>	pag.	156
 <i>Glossario</i>	pag.	161

*Nel testo i termini del glossario sono indicati da asterischi*

## LE SCIENZE A SCUOLA: UNA PROPOSTA DI MODULO DIDATTICO IN TOSSICOLOGIA

Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Maria Rossi

*Settore Attività Editoriali, SIDBAE, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

La dispensa segue le orme tracciate dalle pubblicazioni realizzate, grazie al contributo della legge 6/2000 per la diffusione della cultura scientifica, a partire dal 2001 e rivolte principalmente ai docenti di scuole secondarie, ma anche a studenti con già un buon profitto in biologia.

Una caratteristica di questi materiali didattici è il metodo seguito per realizzarli, che di seguito riporteremo in quanto riteniamo che possa fornire utili indicazioni per la produzione di materiali didattici curriculari aggiornati.

Il punto di partenza è stato, per questa dispensa, la considerazione che gli argomenti di tossicologia sono in genere assenti dai programmi scolastici delle scuole secondarie, mentre possono offrire molteplici spunti per stimolare curiosità e capacità di ragionamento scientifico nei ragazzi. Infatti è possibile introdurre concetti di base in tossicologia facendo leva su esempi connessi con l'esperienza quotidiana (esposizione alle sostanze chimiche contenute nel fumo di sigarette e assunzione di farmaci) e allenare gli alunni a ragionare in termini di dose, di risposta correlata, di frequenza di esposizione e di variabilità individuale, abituandoli a descrivere le loro osservazioni tramite rappresentazione grafica, utilizzando modelli molto semplici per indagare la tossicità di determinate sostanze. Gli studenti possono poi confrontarsi con rilevanti e attuali problematiche ambientali, legate agli effetti inquinanti delle sostanze trattate negli impianti chimici e alla tossicità dei rifiuti prodotti, ma anche, in taluni casi, con le soluzioni messe a punto dalla tecnologia chimica e avere, di conseguenza, una percezione del continuo evolversi delle conoscenze.

Il passo successivo, realizzato grazie all'impegno e alla collaborazione di ricercatori esperti del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e del Dipartimento di Biologia dell'Università Roma Tre, e di docenti in servizio presso istituti di istruzione secondaria superiore, è stato la messa a punto di un percorso di aggiornamento in tossicologia destinato a insegnanti di scuole secondarie. Un programma di massima, accompagnato dalla richiesta di focalizzare eventuali curiosità e preferenze tra gli argomenti da trattare, è stato diffuso a circa duecento scuole campione, dislocate presso regioni del Centro-Sud. Le adesioni e le indicazioni ricevute, confermando il notevole interesse per il programma proposto, hanno portato a tre corsi di formazione dal titolo *Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi: spunti per un'azione didattica*. Le lezioni svolte durante queste iniziative, insieme alla sintesi degli itinerari didattici che ne sono scaturiti, costituiscono il contenuto di questa dispensa.

I tre corsi si sono svolti negli anni 2005-2006. Hanno compreso lezioni, svolte dai ricercatori sopraindicati, seguite da discussioni e lavori di gruppo (Ldg). Una sezione è stata dedicata alle metodologie didattiche attive, idonee a sviluppare il



coinvolgimento e la partecipazione dei ragazzi alla costruzione del proprio patrimonio di conoscenze. Vi hanno partecipato complessivamente 130 insegnanti di scuole secondarie (medie e superiori), provenienti essenzialmente dal Lazio, per le ovvie ragioni legate alla sede del corso, ma anche dalla Campania (circa un quarto), dalla Toscana, dall'Umbria, dalla Sicilia, dalla Puglia, dalla Liguria e dall'Emilia-Romagna.

Le lezioni hanno fornito informazioni essenziali, e al contempo approfondite, sugli effetti delle sostanze chimiche con riferimento a rilevanti attività condotte in questo ambito presso l'ISS e hanno offerto l'opportunità di verificare la trasferibilità in ambito scolastico di contenuti complessi e di metodologie adatte alla loro trattazione. Nei Ldg i partecipanti hanno discusso e abbozzato moduli didattici sulle problematiche che andavano via via approfondendo. In Tabella 1 sono riportati alcuni esempi della varietà di problemi dai quali partire per costruire l'azione didattica. Altri aspetti discussi sono stati i metodi di valutazione dell'apprendimento dei ragazzi: il dibattito ha spaziato dalla verifica *in itinere* con questionario, alla valutazione finale degli elaborati, seguendo i criteri di uso corretto dei termini, di pertinenza e di originalità.

I corsi hanno sperimentato un percorso formativo che ha incontrato l'interesse e l'attenzione dei partecipanti, come hanno confermato le risposte al questionario di gradimento distribuito a fine corso e fatto compilare in modo anonimo. Nel questio-

**Tabella 1** - Tracce di azioni didattiche abbozzate in piccoli gruppi di lavoro e discusse poi in plenaria

Titolo	Obiettivi (essere in grado di descrivere ...)	Metodo
Gli Inquinanti atmosferici: "La bellezza è effimera"	Principali inquinanti atmosferici e comprenderne gli effetti sull'ambiente sia per le componenti biotiche sia abiotiche	PBL
Gli inquinanti atmosferici: "La mascherina"	Conoscenze di base di tossicologia in relazione ai principali inquinanti atmosferici	CC
Pericoli domestici	Caratteristiche chimiche di prodotti di uso comune attraverso la lettura di etichette di pericolo	CC
Un cosmetico improprio: "Bianchettare è bello!"	Conoscenze di base di tossicologia, e distinguere tra rischio e pericolo	CC
Tecniche di cottura e alimentazione	Agenti cancerogeni e/o mutageni presenti negli alimenti e i loro meccanismi di azione	PBL
Il fumo di sigarette	Sostanze contenute nel fumo di sigarette e loro meccanismi di azione a livello molecolare	PBL
La lettura di etichette di merendine preconfezionate, bibite, snack, ecc.	Caratteristiche dei conservanti e dei coloranti trovati e documentarne gli effetti	CC

PBL: *problem based learning*; CC: *concept cartoon*.

I metodi PBL e *concept cartoon* sono descritti da Milena Bandiera a pag. 25.

Le virgolette indicano i titoli dei problemi, o dei *concept cartoon*, punto di partenza del percorso didattico. Ad esempio "La bellezza è effimera" è il titolo del seguente problema: Pino, un mio amico romano, aveva una bellissima statua sul terrazzo, raffigurante Venere. Purtroppo ora il viso di Venere è ormai irriconoscibile. "È proprio vero che la bellezza è transitoria". Spiega il fenomeno dell'inquinamento e ipotizzane gli effetti sulle persone.

nario, di tipo semi-strutturato, le domande a risposta chiusa hanno affrontato quesiti riguardanti il livello di trattazione rispetto alle conoscenze possedute, la chiarezza degli obiettivi, la coerenza dei contenuti con questi ultimi, l'efficacia della metodologia didattica proposta, l'acquisizione di nuovi concetti/capacità, la possibile ricaduta in classe di quanto appreso e, infine, aspetti inerenti l'organizzazione del corso: la durata, la distribuzione delle ore dedicate alle lezioni e alle esercitazioni, la qualità della documentazione distribuita. Le domande chiuse si sono avvalse di una scala numerica (vedi riquadro Figura a pag. 4).

I dati emersi dall'elaborazione dei questionari distribuiti nei tre corsi sono sostanzialmente simili, le Figure 1-5 si riferiscono al primo dei tre corsi e alle sole domande iniziali.

In tutti e tre i corsi, dalle risposte alle domande aperte del questionario emerge che l'impegno e la professionalità dei relatori sono stati identificati come l'elemento trainante delle iniziative, mentre il tempo dedicato alle esercitazioni e ai lavori di gruppo è stato considerato, dalla maggioranza degli insegnanti, insufficiente. Ne è seguito l'invito a realizzare più incontri nel corso dell'anno. È stato elaborato un secondo questionario di valutazione dell'apprendimento (vedi allegato) utilizzabile con gli alunni. Il questionario è stato sottoposto a una verifica di applicabilità facendolo compilare in modo anonimo ai partecipanti ai tre corsi. I dati elaborati, qui non riportati per brevità, dimostrano un buon livello di acquisizione di concetti complessi da parte dei partecipanti.

Concluse le attività di aggiornamento, il passo successivo sono state le esperienze emblematiche in classe sviluppate sulla base dei suggerimenti tematici e metodologici proposti nei corsi. L'azione ha coinvolto studenti di scuole secondarie superiori di diversa tipologia e collocazione geografica, grazie all'impegno di alcune docenti che si sono cimentate nel dare una ricaduta immediata al percorso formativo seguito.

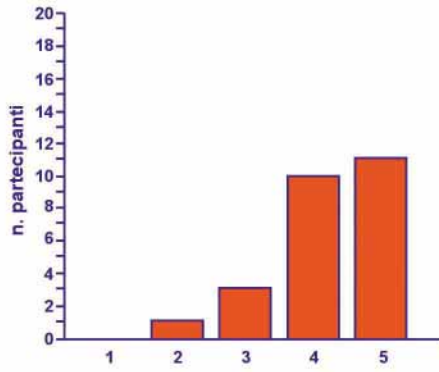
Questa dispensa contiene le lezioni svolte durante i corsi di aggiornamento e la sintesi delle azioni didattiche sopra citate.

Nella maggioranza delle relazioni, con alcune eccezioni legate alle esigenze specifiche dei diversi argomenti, gli autori hanno mantenuto una forma discorsiva. Scelta appropriata alle caratteristiche di questa dispensa, che si propone di offrire materiali per una didattica delle scienze al passo con i tempi.

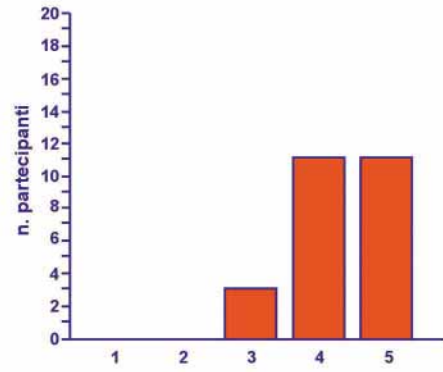
Il primo capitolo *Costruzione di conoscenza in classe: la teoria e la pratica* percorre lo spinoso sentiero della didattica delle discipline scientifiche per arrivare, in una prospettiva di innovazione, a fornire indicazioni metodologiche per il raggiungimento di obiettivi realmente fondamentali.

Le pagine successive raccolgono i contenuti scientifici necessari per costruire un itinerario formativo ideale in tossicologia, scienza relativamente nuova, ma dalle origini molto antiche. I tossicologi studiano l'azione – terapeutica o tossica – delle sostanze chimiche seguendo e affrontando, come descritto nel capitolo *Introduzione alla tossicologia*, i procedimenti e le problematiche poste dal continuo evolversi delle conoscenze. L'introduzione di una nuova sostanza chimica nell'ambiente, ad esempio, richiede ulteriori ricerche per appurarne le dosi, le vie di assorbimento, gli eventuali rischi per la salute connessi all'esposizione.

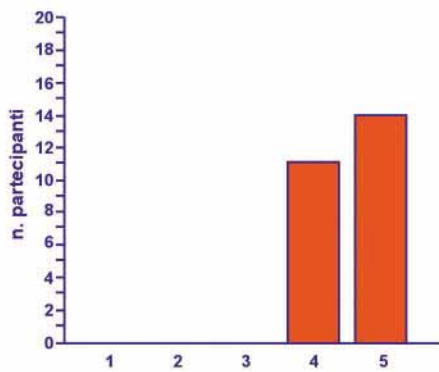
La relazione *Test di tossicità e mutagenicità* presenta un'esercitazione – realizzabile pur con pochi mezzi a disposizione – utile ad introdurre i ragazzi ai concetti della tossicologia.



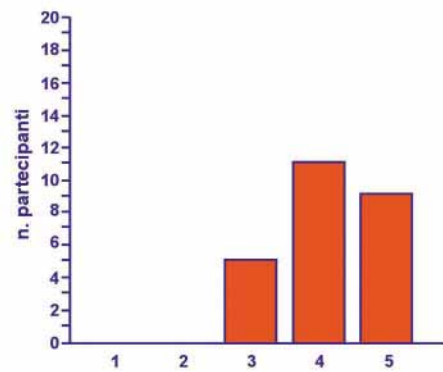
**Figura 1** - La trattazione è appropriata alle mie conoscenze



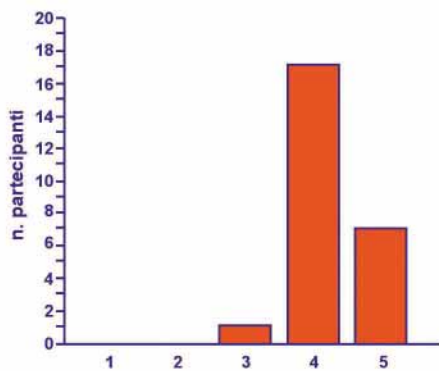
**Figura 2** - La metodologia didattica è efficace



**Figura 3** - Ho appreso concetti nuovi



**Figura 4** - Ho appreso nuove capacità



**Figura 5** - Applicazione nella mia realtà lavorativa

1= non sono affatto d'accordo  
 2= non sono d'accordo  
 3= né d'accordo, né disaccordo  
 4= sono d'accordo  
 5= sono decisamente d'accordo

n. partecipanti al corso: 28  
 n. questionari compilati: 25

Le sostanze risultate pericolose per la loro capacità di provocare effetti dannosi sull'uomo e sull'ambiente sono regolate da particolari normative illustrate nel capitolo *Classificazione di una sostanza chimica e guida alla lettura delle etichette di pericolo*. Norme italiane e europee stabiliscono che le etichette apposte sui contenitori di sostanze pericolose riportino le informazioni sulle caratteristiche dei diversi prodotti fruibili dai consumatori e/o dai lavoratori, ai fini di un corretto impiego quotidiano. L'Archivio preparati pericolosi, gestito dall'ISS, raccoglie una documentazione precisa e dettagliata relativa alle sostanze ritenute pericolose. I medici, tramite i Centri antiveneno, possono accedervi e recuperare le informazioni necessarie per intervenire in modo opportuno in caso di uso improprio del prodotto.

I metodi teorici per la stima del rischio associato a classi di sostanze cancerogene, spiegati nel capitolo *Relazioni tra la struttura chimica e l'attività tossica di mutageni e cancerogeni*, possono dare un forte aiuto alla sperimentazione nell'individuazione dei gruppi chimici potenzialmente dannosi. I metodi struttura-attività sono modelli che, discussi in classe con gli studenti, possono consentire di richiamare conoscenze avanzate di chimica e della simbologia propria di questa disciplina, dai simboli degli elementi alla valenza degli atomi alle formule molecolari e così via.

I successivi tre capitoli: *Agenti mutageni e/o cancerogeni ambientali, Ambiente e stile di vita nel processo di cancerogenesi e Danno al DNA e suscettibilità interindividuale* riescono a comunicare, anche ai non esperti, concetti attuali e complessi nel campo dei tumori: dai dati epidemiologici alla biologia molecolare del processo di cancerogenesi. Ne emerge un quadro coerente e preciso che dimostra i successi ottenuti dalla ricerca scientifica in questi ultimi trent'anni, anche se nella comprensione del cancro rimangono aspetti tuttora da indagare. Le ricerche sviluppate nel campo della biologia molecolare hanno infatti dato chiavi di lettura del processo di cancerogenesi, come è spiegato bene dagli autori delle relazioni sopraindicate, che ripercorrono e chiariscono i punti critici a livello molecolare e cellulare (ciclo cellulare, mutazione, riparazione del DNA, fattore di crescita, ecc.), arrivando a una visione unificata della patologia. Un altro aspetto accennato in uno dei tre contributi riguarda la relazione tra ricerca in campo biomedico e salute individuale e collettiva, che passa attraverso l'adozione di politiche sanitarie capaci di indirizzare la popolazione verso scelte di riduzione/eliminazione dell'esposizione allo specifico agente. L'insieme dei tre capitoli presenta una ricchezza di spunti utili a far riflettere i ragazzi sui benefici che possono derivare, in termini di salute individuale e collettiva, dal progredire della scienza e un invito implicito a scelte volte alla prevenzione delle patologie attraverso la riduzione/eliminazione dell'esposizione agli agenti tossici conosciuti.

Il rischio associato alla presenza nelle derrate alimentari di contaminanti in grado di indurre tumori è ampiamente documentato nel capitolo *Le micotossine nella filiera agroalimentare: informazioni generali e impatto sulla salute dell'uomo e degli animali*. Il fenomeno riguarda principalmente l'Africa sub-sahariana e il Sud-Est asiatico dove la grande umidità del clima favorisce la formazione di muffe che producono sostanze tossiche, le micotossine. I Paesi occidentali ne sono stati coinvolti indirettamente attraverso l'importazione di granaglie.

Il capitolo *I contaminanti nell'ambiente: distribuzione, effetti e rischio per gli organismi* spiega come i fenomeni di trasporto e le relazioni trofiche allarghino molto la scala spaziale e temporale dell'inquinamento. Sostanze inquinanti, infatti, sono state rinvenute anche in zone non soggette all'inquinamento antropico diretto.

Conclude la sezione dedicata agli approfondimenti scientifici il capitolo *La fabbrica della conoscenza scientifica*. L'autore dimostra come gli strumenti statistici usati dagli scienziati per le loro argomentazioni abbiano, insieme agli indubbi meriti, limiti fuorvianti quando applicati allo studio di fenomeni complessi. L'autore indica una nuova strategia per guardare con spirito critico e "comprendere il senso di tante cose che toccano direttamente la nostra vita".

La relazione *Alcuni percorsi didattici*, nell'introdurre la sezione dedicata alla scuola, spiega, anche in riferimento alla collaborazione quasi decennale dell'autrice con l'ISS, motivazioni e aspetti positivi legati all'utilizzo di metodi didattici capaci di stimolare la partecipazione attiva degli alunni e di coinvolgerli nella costruzione di momenti di dialogo con i ricercatori. Apertura della scuola al mondo, ma anche di un istituto di ricerca alla scuola, esperienza positiva per entrambi.

Concludono la dispensa le schede di percorsi didattici emblematici realizzati da scuole di diversa tipologia e collocazione geografica: il Liceo "Virgilio" di Roma, l'ITAS "Sandro Pertini" di Campobasso, il Liceo "Ruggero Settimo" e l'IIS "Angelo Di Rocco" di Caltanissetta, l'IPSSA "Rosario Livatino" di Mazzarino (Caltanissetta). Le schede contengono una sintetica relazione, a cura degli alunni, seguita dal punto di vista degli insegnanti, sull'esperienza svolta. I ragazzi hanno descritto il problema che ha avviato il lavoro, le ipotesi fatte, la metodologia didattica utilizzata, le attività svolte, le loro idee rispetto ai vantaggi e svantaggi percepiti nel lavorare insieme.

Nel concludere ringraziamo i docenti e gli studenti per il contributo fondamentale dato partecipando alle varie fasi del percorso formativo, sperimentandone contenuti e metodi.

Infine invitiamo chi sfoglierà questa dispensa a inviarci impressioni e commenti. Grazie alle vostre indicazioni, la serie di materiali didattici curriculari, avviata nel 2001, potrà evolversi e acquisire sempre più le caratteristiche di strumento utile per la didattica.

Per saperne di più:

<http://science.education.nih.gov/customers.nsf/middleschool.htm>


[http://toxtown.nlm.nih.gov/index\\_content.html](http://toxtown.nlm.nih.gov/index_content.html)

<http://sis.nlm.nih.gov/enviro/toxtutor.html>

<http://www.honoloko.com>

<http://ecoagents.eea.eu.int>

Allegato

	<p><b>QUESTIONARIO DI VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO</b></p> <p>Istruzioni: per ogni domanda indicare una sola risposta</p>
---	---

(Sono evidenziate in giallo le risposte corrette)

**Domanda 1**

Tutte le sostanze chimiche possono essere considerate tossiche?

- a. No, lo sono solo quelle di sintesi industriale (non naturali).
- b. Sì, dipende dalla dose di esposizione.
- c. Sì, tutte tranne i farmaci.
- d. No, solo quelle estranee all'organismo.
- e. Sì, indipendentemente dalla esposizione.

**Domanda 2**

Quali sono i fattori principali che determinano il rischio di manifestarsi di un effetto tossico?

- a. La dose di esposizione.
- b. La pericolosità intrinseca della sostanza, determinata sperimentalmente.
- c. La via e il tempo di esposizione.
- d. La combinazione dei fattori 1 e 3 .
- e. Lo sensibilità dell'organismo.
- f. La combinazione dei fattori a, b, c, e.

**Domanda 3**

Gli effetti sulla salute delle sostanze chimiche sono dovuti al composto come tale?

- a. Sì, sempre, indipendentemente dalla dose e dalla struttura chimica della molecola.
- b. No, mai.
- c. Non sempre. In alcuni casi sono i prodotti della biotrasformazione a produrre gli effetti tossici.
- d. Le sostanze non hanno effetti rilevanti sulla salute perché vengono sempre metabolizzati a composti meno tossici che vengono eliminati dall'organismo.
- e. L'organismo trasforma sempre le sostanze chimiche a composti più tossici responsabili degli effetti sulla salute.

**Domanda 4**

A cosa dovute le differenze negli effetti sulla salute successivi ad esposizione a sostanze chimiche?

- a. Solo alla dose di esposizione.
- b. Solo alla modalità di esposizione.
- c. Al meccanismo di azione della sostanza e/o dei suoi metaboliti rilevanti.
- d. A fattori di risposta individuale.
- e. Alla combinazione dei fattori a, b, c, d.

### Domanda 5

Le Allerte Strutturali per la cancerogenesi definiscono:

- a. Molecole pericolose per la salute.
- b. Sottostrutture chimiche e gruppi funzionali che possono produrre effetti cancerogeni.
- c. Sostanze che sono state dimostrate positive nei saggi in vitro di mutagenesi.

### Domanda 6

Che cosa sono le Relazioni Quantitative Struttura-Attività?

- a. Equazioni matematiche che consentono di quantificare l'effetto cancerogeno di qualsiasi molecola.
- b. Metodi avanzati di saggio biochimico.
- c. Modelli empirici che correlano informazioni chimico-fisiche e biologiche per un gruppo di sostanze chimicamente simili.

### Domanda 7

Che cosa sono le banche dati chimiche relazionali?

- a. Archivi contenenti informazioni sulle caratteristiche chimiche e biologiche di un vasto insieme di composti.
- b. Sistemi esperti per la predizione della cancerogenesi.
- c. Archivi contenenti articoli scientifici relativi alle interazioni tra chimica e biologia.

### Domanda 8

L'inquinamento ambientale è il principale responsabile della elevata incidenza di neoplasie osservata nei Paesi Occidentali?

- a. Sì
- b. No

### Domanda 9

È più dannoso fumare per un consumatore abituale di bevande alcoliche?

- a. Sì
- b. No

### Domanda 10

Qual è la caratteristica di una sostanza che indica il suo potenziale bioaccumulo?

- a. Tendenza a ripartirsi nei lipidi.
- b. Tendenza a ripartirsi in matrici con elevato carbonio organico.
- c. Alta idrosolubilità.

### Domanda 11

Qual è il fattore che determina l'esposizione di un organismo ad un contaminante?

- a. La sua tossicità.
- b. La sua biodisponibilità.
- c. La sua ripartizione nelle matrici ambientali.

### Domanda 12

In uno studio sperimentale od osservazionale la significatività statistica si raggiunge:

- a. Se la differenza fra i gruppi è rilevante.
- b. Se i gruppi sono effettivamente diversi.
- c. Sempre, a patto di avere un numero sufficiente di osservazioni.
- d. Sempre, se le misure sono prese accuratamente.
- e. Solo se il test statistico utilizzato è quello corretto.

**Domanda 13**

La rilevanza di un'affermazione scientifica si giudica:

- a. Dall'entità dell'effetto osservato rispetto alla variabile naturale.
- b. Dalla vastità della sperimentazione.
- c. Dalla coerenza con la teoria corrente.
- d. Dalla rappresentatività del campione analizzato.
- e. Dalla modernità dell'approccio sperimentale.
- f. Dalla combinazione dei fattori a, c, d.



## **COSTRUZIONE DI CONOSCENZA IN CLASSE: LA TEORIA E LA PRATICA**

Milena Bandiera

*Dipartimento di Biologia, Università degli Studi "Roma Tre", Roma*

Il titolo impegna a trattare, in generale, gli aspetti teorici della costruzione di conoscenza e in particolare quel tipo di costruzione che si realizza a scuola, e a fornire coerenti indicazioni metodologiche. Per affrontare la questione disponendo delle necessarie preconoscenze e motivazioni si rende necessaria una premessa dedicata alla valutazione dell'opportunità di orientare le strategie di insegnamento al raggiungimento di obiettivi realmente fondamentali, e successivamente alla verifica delle idee personali di scienza. Come a dire che per insegnare la scienza è importante sapere a quali esiti dell'apprendimento mira il comportamento del docente, e su quale concezione di scienza è basata la rappresentazione che se ne propone.

### **Un sapere da cambiare?**

In questi giorni la pubblicità radiofonica di non-so-cosa propone il racconto da parte di un ragazzo di una sua avventura: l'esplorazione di un luogo particolarmente interessante dal punto di vista naturalistico. Il racconto è ricco di dettagli scientificamente rilevanti cosicché due adulti compiaciuti, verosimilmente i genitori, commentano: "Oggi il sapere si trasforma in realtà".

Non è vero! Un problema sottovalutato, certamente irrisolto, in ambito formativo, è proprio la divaricazione tra saperi scolastici e vita quotidiana, anche all'università, dove l'età degli studenti e gli interessi dei ricercatori dovrebbero favorire una sistemica saldatura. A dire il vero, in Italia non sono molte le istituzioni impegnate in un tipo di ricerca orientata alla immediata ricaduta sulla realtà. L'Istituto Superiore di Sanità ne è un esempio. (Le relazioni presentate in questo corso confermano l'affermazione e, considerato il ruolo dell'Istituto, non c'è ragione di sorprendersi.)

Preso atto della citata anomalia dei percorsi formativi, è doveroso interrogarsi sulla missione della scuola. Una possibile risposta è l'alfabetizzazione, scientifica nel caso d'interesse. Ciò equivale a sostenere che, superata la concezione di "trasmissione della conoscenza" (una concezione secondo la quale l'insegnante *possiede* saperi che alla fine dell'intervento saranno *posseduti* anche dagli alunni), si intende sollecitare nel corso degli studi un'attiva costruzione di conoscenza da parte dell'alunno perché eserciti e arrivi a padroneggiare strumenti di interpretazione della realtà. Strumenti, tanto più utili quanto più ricca sarà la conoscenza della realtà, non informazioni. La pratica della pesca, non il pesce.

Si intendono per alfabetizzazione il processo di impostazione e l'esito della disponibilità di competenze e di atteggiamenti che possono consentire allo studente – e poi al cittadino – di disporre di spiegazioni, di elaborarle da solo, utilizzando adeguatamente i saperi per fini *pratici*.

Dell'alfabetizzazione scientifica si sono occupati da quasi un secolo non soltanto i ricercatori scienziati ma anche i pedagogisti. Indicazioni significative circa gli aspetti essenziali si devono a L.E. Klopfer (1975) che negli anni '70 così li identificava, stabilendo un parallelo con la pratica dell'impresa scientifica:

- la disponibilità di un patrimonio specifico di conoscenze basilari, significative (fatti, concetti, principi, teorie), che siano padroneggiate, non semplicemente memorizzate;
- la familiarità con le procedure della ricerca scientifica, tra le quali sembrano particolarmente importanti l'osservazione e la misurazione. (Attenzione! L'osservazione non può essere considerata un'azione spontanea e destrutturata. Per osservare occorre avere un progetto e per vedere mentre si osserva occorre il supporto di specifiche conoscenze.);
- la propensione a individuare problemi e a cercare strategie di soluzione;
- l'esperienza nell'interpretazione di dati e nella formulazione di generalizzazioni;
- la capacità di costruire, verificare e revisionare modelli teorici (quindi, secondo Klopfer, i momenti fondamentali del processo di ricerca scientifica dovrebbero essere mimati a scuola per costruire le competenze corrispondenti e per dare una sorta di statuto scientifico alle azioni e al pensiero delle persone);
- l'attitudine a *usare*, ad applicare conoscenze scientifiche e metodi propri della scienza;
- l'abilità manuale (perché il rapporto conoscitivo con gli oggetti e con gli eventi naturali richiede una qualche forma di manipolazione);
- atteggiamenti e interessi congruenti e rilevanti per la scienza;
- un orientamento (che oggi forse definiremmo politico) a individuare oneri e responsabilità della scienza non solo rispetto all'ampliamento delle conoscenze, ma anche con riferimento a questioni socialmente rilevanti.

Alla luce di queste indicazioni il modello scolastico più ampiamente praticato (lezione, interrogazione e, occasionalmente, laboratorio o esercitazione) appare non propriamente adeguato, tale da imporre agli insegnanti la sperimentazione di proposte metodologiche mirate a promuovere l'acquisizione delle capacità auspiccate.

Un ulteriore stimolo alla riflessione è offerto da un articolo apparso sulla rivista *Prometeo* (Durant, 1994), che riferisce le concezioni di un eminente personaggio, Jon D. Miller, direttore del Centro Internazionale per l'Incremento dell'Alfabetizzazione Scientifica a Chicago: una persona scientificamente alfabetizzata sarebbe individuata in base alla disponibilità di un vocabolario base di termini e concetti, alla capacità di fare riferimento ai processi e ai metodi della scienza per mettere alla prova i modelli di realtà, e di valutare l'impatto della scienza e della tecnologia sulla società.

Si tratta di una definizione più sintetica di quella di Klopfer, che però ne rinforza due aspetti fondamentali: la molteplicità delle conoscenze/competenze da prendere in considerazione e l'inclinazione alla contestualizzazione, cioè la tendenza a mettere in relazione le conoscenze scientifiche via via acquisite con la realtà che ci circonda.

Questi aspetti si prestano a essere fissati come canoni di riferimento per l'impostazione dell'innovazione didattico-metodologica.

## L'immagine di scienza

Secondo John Durant (1994) le immagini di scienza più comuni e informali fanno riferimento a quattro convinzioni.

*"Esiste un approccio scientifico per la soluzione dei problemi"*. Si tratta quasi di un luogo comune che viene però spesso inteso nella forma *per risolvere un problema è sufficiente affrontarlo con strumenti scientifici*. Anche se il problema attiene al terreno teorico o ideologico. Ne danno testimonianza recenti dibattiti sulla fecondazione assistita o sugli organismi geneticamente modificati. Dove risiede l'ambiguità?

Recentemente l'*Osservatore Romano* ha pubblicato un articolo di un docente universitario bolognese afferente al Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Fiorenzo Facchini (2006). Il tema è l'evoluzione ed è trattato in accordo con le ricerche più moderne e più avanzate. Nelle ultime quattro righe una affermazione netta circa il ruolo fondamentale del Creatore. Sorprende che sia possibile conciliare un'informazione scientifica così approfondita e lucida con la finale professione di fede. In realtà, questo compromesso tra scienza e religione raggiunto da un sacerdote-scienziato appare meno scandaloso del diffuso sostegno all'evoluzionismo darwiniano, motivato esclusivamente dalla natura di teoria fondata su processi ratificati in ambito scientifico.

Quanto spesso lo scientismo induce a ritenere che un discorso *scientifico* non richieda verifiche personali e che non sia legittimo sottoporlo ad analisi critiche? Quanti sono consapevoli della componente di soggettività dei *dati* scientifici, della provvisorietà delle spiegazioni scientifiche?

*"L'approccio scientifico alla soluzione dei problemi implica l'adozione di un atteggiamento e di un metodo scientifico"*. Questa asserzione può essere compresa con riferimento alle due asserzioni successive.

*"L'atteggiamento scientifico corrisponde a una combinazione di curiosità disinteressata, mente aperta, abitudine a basare il giudizio sui fatti, ecc"*.

Il ricercatore-scienziato è considerato dai più il massimo esponente di coloro che adottano questo atteggiamento e certamente il ricercatore-scienziato è curioso, intellettualmente dotato, impegnato a confrontarsi interattivamente con oggetti e fenomeni. Ma si può dire che sia disinteressato? Sempre più frequentemente sono portati all'attenzione pubblica casi di scienziati che, a fronte delle limitazioni dei finanziamenti alla ricerca o della forte connessione tra prestigio e possibilità di continuare a occupare la propria posizione, hanno commesso truffe, hanno presentato dati inventati (v. ad esempio Hwang *et al.*, 2004<sup>1</sup>; Sudbø *et al.*, 2005<sup>2</sup>). Oppure hanno ritoccato le foto che testimoniano qualità ed esiti del lavoro svolto, decine di immagini che corredano il 20-30% dei lavori ricevuti da prestigiose riviste (inizialmente *Journal of Cell Biology* e *Journal of Clinical Investigation*). In alcuni casi il ritocco ha assunto la connotazione di vera e propria contraffazione cosicché si è resa necessaria la modifica delle istruzioni per la presentazione dei lavori (Rossner and Yamada, 2004).

---

<sup>1</sup> Woo Suk Hwang, ricercatore alla Seul National University, dal 2004 pubblica vari articoli su *Science* dedicati alla produzione di cellule staminali da embrioni umani clonati\*; nel 2005 è accusato di violazioni bioetiche in relazione alla modalità di acquisizione degli ovociti, quindi una Commissione di inchiesta dimostra la falsificazione di tutti i dati pubblicati.

<sup>2</sup> Jon Sudbø fonda la sua ricerca su 900 profili di paziente (nome, età, genere, peso, patologie, diagnosi, assunzioni di medicinali) totalmente inventati, riferendoli a un database nazionale non ancora entrato in funzione.

Occorre quantomeno essere consapevoli delle difficoltà che comporta la costruzione di un atteggiamento scientifico abilitante e impegnativo, in una società che in ogni campo premia le manifestazioni del successo e del potere.

*"Il metodo scientifico implica la formulazione di ipotesi da sottoporre a una prova critica attraverso esperimenti adeguatamente controllati"*: una affermazione cruciale sul terreno epistemologico che Durant completa fornendo una sintetica descrizione del processo che si mette in atto quando, con riferimento a un corpus di conoscenze consolidato, uno scienziato identifica un problema (o una opportunità di contribuire a quel corpus) e svolge, del tutto o in parte, il lavoro: ne elabora una stesura scritta conformemente a convenzioni rigide, fa fronte alla recensione critica (accettazione con o senza modifiche, rifiuto). Il lavoro è allora pubblicato o presentato a un congresso: si tratta del momento in cui membri della comunità scientifica prendono posizione sulla significatività dei dati e quindi stabiliscono se quei nuovi dati vanno a integrarsi nell'assetto delle conoscenze o devono essere sottoposti a ulteriori verifiche.

Ebbene, mentre i programmi scolastici sembrerebbero orientati a promuovere una alfabetizzazione scientifica del tipo fin qui descritto, i libri di testo scolastici e le *normali* attività didattiche per lo più la ignorano. Questa incongruenza potrebbe essere giustificata solo se gli esiti fossero comunque soddisfacenti. Non lo sono!

### Una scuola da cambiare?

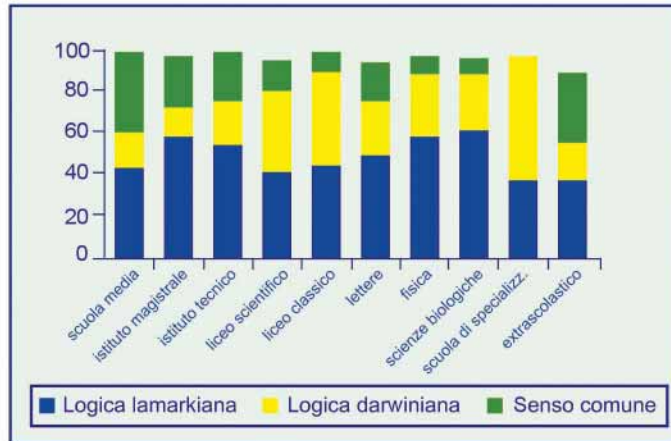
Significativi motivi di insoddisfazione sono evidenziati da ricerche sulle rappresentazioni mentali e dalle prove d'accesso al corso di laurea in Scienze biologiche. Se ne trae l'indicazione che effettivamente sarebbe necessario apportare sostanziali modifiche nei percorsi e nei metodi della formazione scientifica .

Il primo caso è incentrato su un item tratto dal questionario utilizzato per una ricerca che ho condotto quasi trenta anni fa, una delle mie prime ricerche in didattica, che, considerata la mia specifica competenza genetica, riguarda l'ereditarietà (Bandiera, 1990). In particolare gli obiettivi della ricerca riguardano l'adesione a concezioni di impronta darwiniana o lamarckiana rispetto all'ereditarietà dei caratteri acquisiti e l'incidenza della scuola su queste concezioni.

L'item è il seguente.

*"Quando furono immessi nel mercato gli insetticidi erano molto efficaci nell'uccidere mosche e zanzare. Oggi, trent'anni dopo, il trattamento con gli stessi insetticidi uccide un numero limitato di questi insetti. Perché?"*

Sono fornite tre risposte: una fondata sulla logica darwiniana, che sottintende eventi di mutazione\* e selezione (*"In seguito al trattamento con l'insetticida un numero sempre maggiore di insetti è costituito da discendenti di insetti per loro natura resistenti all'insetticida"*); una fondata sulla concezione lamarckiana dell'ereditabilità di un carattere acquisito (*"Il trattamento con l'insetticida ha indotto negli insetti un cambiamento ereditario che comporta la resistenza all'insetticida stesso"*); una terza risposta formulata con riferimento alla opinione più frequentemente espressa nel corso di una indagine preventiva che presentava le domande in forma aperta, opinione che anticipa i risultati dell'indagine dal momento che è riconducibile a schemi di impronta lamarckiana (*"Il trattamento con l'insetticida ha via via immunizzato gli insetti contro l'insetticida stesso"*).



**Figura 1** - Frequenze percentuali di scelta delle tre opzioni proposte per spiegare la sempre minore efficacia degli insetticidi

Dalla Figura 1 si evince che il questionario è stato somministrato a dieci diversi sub-campioni (ciascuno costituito da almeno 100 individui, in generale da un numero variabile tra 200 e 300). Si tratta di alunni di diversi ordini e gradi di scuola, dalla scuola media (3° anno), alla secondaria superiore (ultimo anno di corso), all'università (1° anno di corso), alla Scuola di specializzazione in Genetica medica. È anche presente un campione cosiddetto extrascolastico, contattato nelle sale d'aspetto di medici della mutua, escludendo i laureati in discipline scientifiche e coloro che svolgevano attività direttamente attinenti alle scienze.

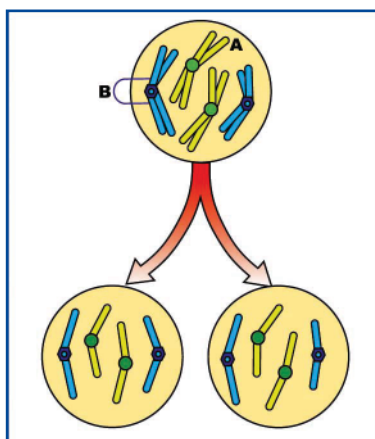
Due notazioni prima di esaminare i dati. Il campione della scuola media può essere considerato un controllo assoluto dal momento che, essendo il linguaggio dell'item piuttosto complesso, è lecito ipotizzare che ragazzi tredicenni non capissero a fondo né la questione, né le alternative: si saranno affidati all'intuito e avranno scelto la risposta che, grosso modo, è sembrata loro più sensata. Inoltre i ragazzi dei campioni relativi alla scuola secondaria e all'università erano sostanzialmente coetanei, avevano la medesima esperienza scolastica, ma i primi rendono conto dell'incidenza del tipo di scuola sulla competenza indagata, i secondi della rilevanza dell'orientamento culturale (quanto un prevalente interesse verso le scienze incida sulla scelta della risposta).

La prima colonna: nella scuola media la risposta giusta (sezione rossa) raccoglie il minor numero di adesioni. Poco più del 10% degli studenti opta per la risposta corretta. Se la scelta fosse stata del tutto casuale, ogni alternativa avrebbe totalizzato il 33% delle adesioni, quindi è lecito affermare che l'alternativa "darwiniana" è scartata preferenzialmente, sembra meno ragionevole delle altre due, molto simili quanto a tipologia di spiegazione.

Tra le scuole secondarie superiori il liceo scientifico e il liceo classico incidono significativamente sull'atteggiamento di spiegazione: le opzioni corrette superano il 30%. Il fatto che nella scuola di specializzazione (dove le opzioni corrette si attestano circa al 60%), il 40% degli studenti aderisce all'ipotesi della ereditabilità del carattere acquisito indica quanto sia considerata poco appetibile la spiegazione darwiniana.

Quando gli studenti della scuola secondaria passano all'università, le competenze si equilibrano. Quindi un particolare interesse per questo tipo di fenomenologia, che dovrebbe caratterizzare gli studenti iscritti a Scienze biologiche, in realtà non ha acuito la loro attenzione negli anni precedenti, e non ha differenziato la loro preparazione da quella, ad esempio, degli studenti portati per le Lettere.

Il dato più significativo dal punto di vista dell'efficacia della scuola è quello rilevato nelle sale d'attesa dei medici: le percentuali di scelta delle tre alternative sono assolutamente identiche a quelle relative alla scuola media. Si tratta di una peculiarità riscontrata in tutti i paesi occidentali: le persone che escono dalla scuola – se non svolgono un'attività incentrata sullo specifico – tornano a pensare e a ragionare come pensavano e ragionavano prima della frequenza scolastica. Questo non può certo essere considerato un segno di successo della scuola, ma potrebbe essere correlato con la scarsa incisività dei programmi scolastici e ricondotto a meccanismi adattativi di *economia*, ovvero alla tendenza a prestare attenzione, a spendere impegno, a consumare energie solo per tenere a memoria ciò che effettivamente occorre.



**Figura 2** - Rappresentazione schematica del processo mitotico che costituisce parte integrante dell'item citato nel testo

Per mettere meglio a fuoco il contributo della scuola su un fronte più riduttivamente disciplinare, cercando di disegnare il profilo dello studente al suo ingresso all'università, possono essere utilizzate le prove di accesso all'università. Si tratta di test somministrati nei corsi di studi a numero programmato o dove si intende fornire allo studente una occasione di orientamento e di autovalutazione (Bandiera, 2005). I campioni di immatricolandi ai quali fanno riferimento i casi presentati variano, nell'arco dei quattro anni esaminati, da 217 a 329.

Il testo dell'item recita: "il processo schematizzato in figura è detto: a) **cariocinesi**<sup>3</sup>, b) **citodieresi**, c) **meiosi**<sup>\*</sup>, d) **mitosi**, e) **scissione**". I medesimi studenti che distinguerebbero con sicurezza la meiosi e la mitosi recitando il dimezzamento o il mantenimento del numero di cromosomi, scelgono equamente (a caso?) le opzioni "c" (40,5%) e "d" (39,2%).

La rappresentazione di Figura 2 non consente di utilizzare *nozioni* acquisite mediante codici verbali. Quanti insegnanti e quanto spesso esercitano l'interpretazione delle figure del libro di testo?

Altro caso da esaminare, avendo presente che gli studenti sono informati della possibilità che sia corretta più di una delle opzioni relative a un item.

"Considerata la reazione tra idrogeno e ossigeno gassosi per formare l'acqua 1 litro di gas idrogeno è in grado di reagire, a parità di pressione e temperatura, con: a) 1 litro di ossigeno, b) 2 litri di ossigeno, c) **1/2 mezzo litro di ossigeno**, d) **5x10<sup>-1</sup> litri di ossigeno**, e) nessuna delle risposte precedenti è corretta".

Il 23% degli studenti non risponde: un primo dato significativo, considerato che le conoscenze implicate sono elementari e che il questionario è finalizzato all'accesso al corso di laurea in Scienze biologiche. Si potrebbe considerare positivo il fatto che

<sup>3</sup> Nella presentazione di item tratti da questionari sono indicate in grassetto le opzioni corrette.



l'opzione "c" sia scelta dal 53% degli studenti, ma solo il 4,1% è in grado di riconoscere l'identità della opzione "d". Una competenza aritmetica che può essere fatta risalire alla scuola media.

Ancora un item che sollecita la riflessione sul conformismo degli itinerari scolastici. Spesso libri di testo diversi fanno ricorso ai medesimi esempi, alle medesime proposte sperimentali, probabilmente anche alle medesime argomentazioni (meno facilmente individuabili) come se una sorta di accordo imponesse di battere gli stessi terreni. Quali conseguenze sulla qualità dell'apprendimento? Ecco due item presentati rispettivamente nel 2001 e nel 2002.

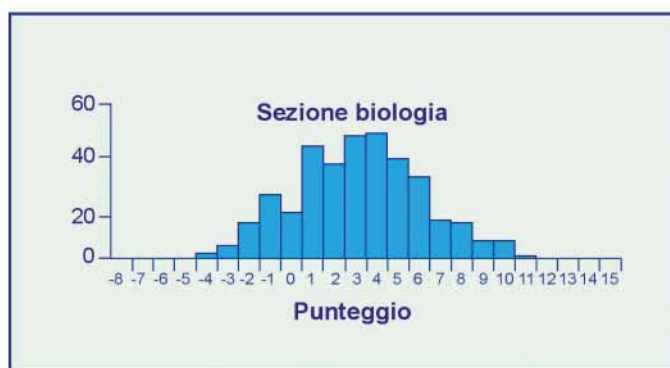
*"Una palla lanciata verso l'alto nell'aria ha velocità zero quando raggiunge il punto più alto della traiettoria. In quell'istante la sua accelerazione è: a) 0 m/sec<sup>2</sup>, b) massima, c) variabile, d) -9,8 m/sec<sup>2</sup>, e) minima".*

*"Un pallone lanciato verticalmente ha velocità zero quando ha raggiunto il punto più alto della sua traiettoria. In quell'istante la sua accelerazione è a) 0 m/sec<sup>2</sup>, b) minima, c) variabile, d) -9,8 m/sec<sup>2</sup>, e) massima".*

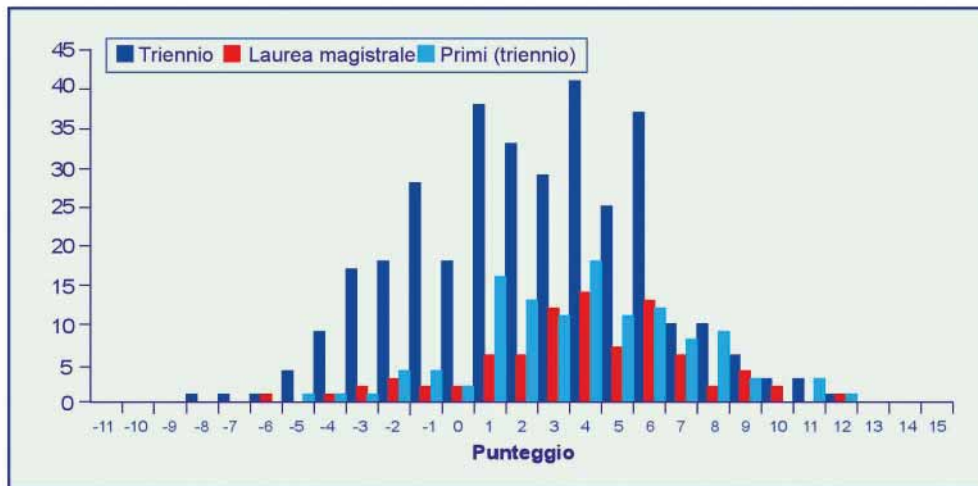
In due anni successivi le percentuali relative alle opzioni sia corrette, sia sbagliate sono straordinariamente simili. "-9,8 m/sec<sup>2</sup>": 14,3% e 9,7%; "0 m/sec<sup>2</sup>": 54,2% e 64,1%; "minima": 8,2% e 7,8% ... Gli studenti commettono uno stesso errore come se fossero stati condizionati ad adottare un medesimo schema di ragionamento (inadeguato) o se non fosse stato riconosciuto – e corretto – un diffuso pregiudizio.

Il questionario d'accesso considerato integralmente è costituito da cinque sezioni; una, detta "generale", impernata su un brano dedicato a un argomento scientifico di attualità, pubblicato da un quotidiano, una sezione di biologia, una di chimica, una di fisica e una di matematica. Ogni sezione comprende 12 item e, grazie al fatto che le opzioni corrette possono essere più di una, consente di cumulare un punteggio massimo pari a 15.

L'istogramma in Figura 3 (relativo al 2006) rappresenta bene le caratteristiche delle frequenze dei punteggi relativi a una singola sezione: la distribuzione è normale (ovvero il test è metodologicamente adeguato), il punteggio massimo assegnato è notevolmente inferiore a 15 e il punteggio medio è assai basso. Inoltre un gran numero di studenti – più della metà nel caso della sezione di Fisica – non è in grado di rispondere. Se si considera che, nelle intenzioni dei docenti universitari, gli item



**Figura 3** - Distribuzione dei punteggi relativi alla sezione di Biologia del questionario di ingresso, ottenuti nell'anno 2006 da 357 studenti immatricolandi



**Figura 4** - Distribuzione dei punteggi relativi alla prima sezione del questionario di ingresso, ottenuti nell'anno 2005 da 329 studenti immatricolandi al corso di laurea triennale e 84 immatricolandi alla laurea magistrale. (È presentata anche la distribuzione dei punteggi dei primi 100 studenti nella

mettono alla prova conoscenze e competenze necessarie per una efficace fruizione dell'offerta didattica, solo un drastico abbassamento di livello degli studi potrebbe scongiurare abbandoni e insuccessi.

Indicazioni che possono essere riferite all'alfabetizzazione piuttosto che alla competenza disciplinare si possono ricavare dalle prestazioni relative alla prima sezione.

La Figura 4 fa riferimento ai punteggi della prima sezione del questionario 2005, ottenuti nel caso in cui tale sezione era dedicata alla lettura/interpretazione di un breve testo tratto dal *Corriere della Sera* (Gaggi, 2005) e dedicato all'uso delle cellule staminali\* per lo studio delle patologie neurodegenerative dell'uomo. Si tratta di tre distribuzioni che riguardano rispettivamente le prestazioni di immatricolandi alla laurea triennale (bleu), dei 100 immatricolandi che hanno riportato i punteggi più alti e che potranno quindi immatricolarsi (celeste) e di immatricolandi alla laurea magistrale (rosso). In tutti i casi i punteggi massimi e il punteggio medio sono bassi a dimostrazione di una scarsa disponibilità di strumenti culturali adeguati allo scopo (la comprensione di una informazione scientifica rivolta al cittadino comune!). Il confronto tra la seconda e la terza distribuzione evidenzia una sostanziale irrilevanza del percorso universitario ai fini dell'acquisizione di tali strumenti. In ogni caso, la notevole somiglianza tra le due distribuzioni (in entrambe il punteggio medio è pari a 3,8!) impone di attribuire le medesime carenze alla scuola pre-universitaria e all'università.

### Personali immagini di scienza

Innanzitutto un esercizio per cercare di definire la propria immagine di scienza (Bandiera *et al.*, 1998). La consegna consiste nella richiesta di stabilire se si considera *scientifico* il contesto nel quale sono state formulate le affermazioni elencate di seguito e di motivare l'opinione espressa.



- La donna scorpione tende a primeggiare.
- La somma degli angoli interni di un triangolo è 180°.
- I moscerini originano dalla frutta marcia.
- Nei prossimi giorni la regione sarà interessata da basse pressioni e quindi da maltempo.
- Il vino deve essere imbottigliato durante la fase di luna calante.
- Le mutazioni sono alla base dell'evoluzione biologica.
- La diarrea si cura con *arsenicum* 5CH.

I criteri che sono presi in considerazione più frequentemente sono l'adesione a un contesto teorico, la metodologia adottata per pervenire alla formulazione, la verificabilità ovvero la idoneità rispetto alla formulazione di previsioni, la correttezza dell'affermazione, la disponibilità di criteri di spiegazione, la tipologia della questione, le forme della validazione,....

Di norma il confronto tra le diverse opinioni porta a stabilire un numero limitato, ma condiviso di peculiarità della conoscenza scientifica: verificabile e falsificabile con opportune pratiche sperimentali; condivisa dalla comunità degli esperti; dotata di struttura razionale, coerente e aperta a emendamenti e integrazioni; espressa in un linguaggio rigoroso che escluda il rischio di interpretazioni ambigue o scorrette; feconda di applicazioni volte alla soluzione di problemi.

È anche possibile arrivare a concordare sui principali fattori di cambiamento della conoscenza scientifica: la scoperta di nuovi fatti empirici, l'emergenza di critiche razionali, la modificazione del contesto socio-economico o del contesto culturale, l'efficacia pratica di alcune applicazioni, e ... fattori irrazionali.

Una caratteristica fondamentale della scienza è messa a fuoco, indirettamente, da due grandi biologi, Francisco Ayala (1968) e Ernst Mayr (1982/1990). Il primo afferma che "*la scienza cerca di organizzare la conoscenza in modo sistematico, tentando di scoprire modelli di relazione tra fenomeni e processi*", che "*la scienza si adopera a fornire spiegazioni del verificarsi degli eventi*", che "*la scienza propone ipotesi esplicative che devono essere verificabili*". Il secondo che "*la scienza tenta di riassumere la grande diversità dei fenomeni e dei processi naturali sotto un numero molto minore di principi esplicativi*". Ebbene, tutte le definizioni hanno in comune una dimensione spesso sottovalutata, se non negata, nell'immagine di scienza oggi pubblicizzata, quella dell'impegno e, al contempo, dell'incertezza (*cerca, tentando, si adopera, propone*).

L'ultima notazione è dedicata alla voce "*scienza*" del vocabolario Zingarelli (1995): "*conoscenza esatta e ragionata che qualcuno ha grazie allo studio, all'esperienza, all'osservazione*". Ogni parola è importante e densa di significato, ma una è cruciale: "*ragionata*". A indicare che così come il *dato* richiede una elaborazione razionale per essere qualificato *sapere*, solo i saperi argomentati contribuiscono legittimamente al corpus della conoscenza scientifica.

### Scienza e società: un caso

Un esempio coerente con i contenuti del corso può aiutare a mettere a fuoco come il mondo della ricerca scientifica contribuisca alla soluzione di problemi socio-sanitari e come quindi particolari filoni di interesse scientifico si prestino a consolidare e approfondire argomenti del programma scolastico, consentendone una immediata contestualizzazione.

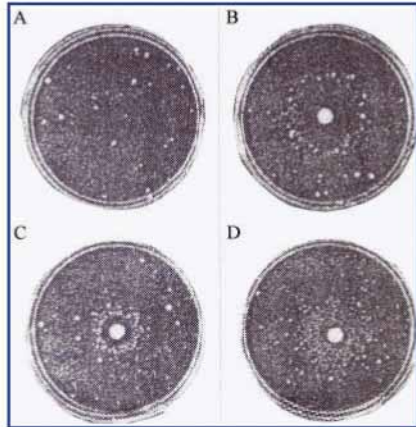
La prima percezione della presenza nell'ambiente di cancerogeni chimici risale al 1775, quando si associò il cancro allo scroto con il lavoro degli spazzacamini. Si trattava quindi di una esposizione di tipo professionale. Soltanto negli anni '60, a processo di industrializzazione notevolmente avanzato, l'associazione tra esposizione a sostanze chimiche e particolari malattie è divenuta oggetto di studi sistematici.

La difficoltà dell'impresa è apparsa chiara fin dall'inizio (Maugh, 1978) sulla base di ovvie considerazioni:

- *qualsiasi valutazione sulla sicurezza di un prodotto si scontra con interessi economici.* Sono certamente economici gli interessi degli imprenditori che producono per vendere, ma non debbono essere trascurati gli interessi delle persone che non vogliono rinunciare alle case riscaldate, a mezzi di trasporto veloci, ad alimenti che si mantengono a lungo, a farmaci che consentono rapide guarigioni.
- *i soli dati non contestabili sono quelli epidemiologici* (si pensi quante persone debbono ammalarsi e morire per un tumore determinato dall'esposizione a una sostanza affinché sia possibile mettere in relazione l'esposizione con l'evento!) Sulla base di questi dati sono stati identificati come certamente cancerogeni l'amianto, l'arsenico, il benzene, e altre sostanze che tuttavia sono rimaste a lungo sul mercato e nell'ambiente dell'uomo.
- *in generale, qualsiasi campione da osservare è soggetto a più di una esposizione.*
- *in generale, il campione da osservare non è un gruppo omogeneo (per sesso, età, abitudini alimentari, stile di vita, ecc.) di esposti.*
- *in generale, gli esposti si spostano*, nel corso della giornata in diverse zone dell'area di residenza, nel corso della vita in diverse aree, per turismo, per lavoro, occasionalmente o definitivamente.
- anche in situazioni apparentemente ottimali per l'osservazione, come l'esposizione in ambienti di lavoro, *non è facile individuare l'agente specifico*, responsabile delle conseguenze indesiderate: reagente, prodotto, sottoprodotto di un processo industriale, oppure materiali utilizzati per la costruzione o la manutenzione di attrezzature e macchinari, o altro ancora.

Le citate difficoltà e la valutazione del numero altissimo (parecchie migliaia) delle sostanze da sottoporre a test, imponeva di scartare non solo l'ipotesi della raccolta di dati epidemiologici, ma anche quella relativa all'utilizzo di animali, dal momento che la manifestazione del tumore a seguito di una esposizione sperimentale avrebbe richiesto troppo tempo. Sembrò una buona soluzione quella ideata da Bruce Ames (Ames *et al.*, 1975) sulla base di una approfondita conoscenza della *Salmonella*\* sul terreno genetico e biochimico. Il procedimento proposto avrebbe consentito quantomeno di decidere su quali sostanze eseguire indagini più approfondite: un test di *screening*, che costava pochi dollari e richiedeva qualche giorno, a fronte di una spesa valutata al tempo in 250.000 dollari e una durata di 3/5 anni per test definitivi. Il test di Ames, che sfrutta la possibilità di individuare mutazioni indotte nella *Salmonella*, mira ad assimilare l'esposizione del DNA del batterio al presunto mutageno quanto più possibile a quella che subirebbe il DNA dell'uomo.

Inizialmente il protocollo prevedeva che si deponesse un piccolo disco di carta da filtro imbevuto nella sostanza da saggiare al centro di una piastra\* contenente terreno di coltura\* e un definito numero di cellule batteriche che avrebbero potuto formare una colonia\* solo se avessero subito una particolare mutazione. Dopo una opportuna



**Figura 5** - Il test di Ames nella prima versione: nelle piastre contenenti un terreno colturale privo di istidina è seminato un ceppo di *Salmonella* che richiede l'amino acido per crescere; i dischetti posti al centro sono imbevuti con le sostanze da saggiare. Le colonie di mutanti che non richiedono più istidina appaiono bianche (modificata da Maugh, 1978)

incubazione potevano essere contate le colonie mutanti e il numero confrontato con quello delle colonie presenti in analoghe piastre di controllo (senza la sostanza).

La prima piastra in Figura 5 è appunto la piastra di controllo dove si sviluppano le colonie di mutanti spontanei. Nella seconda piastra intorno al dischetto imbevuto con un additivo alimentare (furilfuramide) si nota una corona circolare – dove la concentrazione dell'additivo è massima – assolutamente priva di colonie: le cellule batteriche sono morte per effetto della tossicità della sostanza. Poiché la sostanza diffonde radialmente è possibile correlare la successiva corona circolare particolarmente ricca di colonie mutanti con una precisa concentrazione alla quale la sostanza esprime la propria mutagenicità. Si procede analogamente per valutare l'effetto dell'aflatossina (terza piastra) e del 2-aminofluorene (quarta piastra).

Il test è stato via via ottimizzato fino ad adottare la forma con la quale appare nelle normative internazionali: almeno tre concentrazioni delle sostanze da saggiare sono incorporate nel terreno di coltura; i ceppi batterici sono modificati geneticamente in modo da evitare che le strutture di membrana ostacolino l'ingresso della sostanza in esame e che siano riparate le lesioni eventualmente indotte; prima dell'utilizzo per il test le sostanze da saggiare sono sottoposte all'azione di enzimi (estratto microsomiale) che potrebbero modificarne l'attività nell'ambito dell'organismo umano.

Non può sfuggire il concorso di competenze diversificate maturate in ambiti di ricerca che – al tempo – erano per lo più squisitamente accademici, né la molteplicità di aspetti formativi che valorizzano la trattazione della questione.

## I fondamenti dell'innovazione didattica

Alcune delle considerazioni anticipate prefigurano le linee guida per la impostazione o la scelta di metodologie didattiche innovative (il secondo degli impegni assunti formulando il titolo).

a) La concezione di *costruzione* di conoscenza ha soppiantato quella di *trasmissione* di conoscenza e impone di adottare strategie per catturare l'interesse dello studente, per garantire quindi il suo coinvolgimento, per far maturare la sua convinzione che sta imparando cose significative e utili.

b) Sebbene la scuola sia cambiata e stia tuttora cambiando, gli esiti della frequenza scolastica degli studenti non sono quelli attesi: gli studenti non *imparano* ciò che sembra sia loro *insegnato* nella scuola pre-universitaria o che sembrerebbe ovvio *sapessero* iscrivendosi all'università.

c) Un obiettivo qualificante dell'insegnamento scientifico è l'impostazione di una sensibilità epistemologica che consenta per un verso di considerare i saperi scientifici attuali non definitivi, provvisori, soggetti e assoggettabili ad approfondimenti,

integrazioni, ma anche a ribaltamenti (come, in ogni campo, è avvenuto in passato) e, per altro verso, di assumere personalmente la responsabilità del giudizio relativamente a questioni che richiedono il ricorso a quei saperi.

d) Poiché le conoscenze hanno a che vedere con l'ambiente culturale in cui sono prodotte e, grazie alla scuola, si radicano nella cultura del presente, è opportuno che a scuola siano messe a confronto con la natura e con le esigenze della società, senza dimenticare che anche i processi della ricerca scientifica sono processi umani, quindi sono soggetti in negativo alle conseguenze delle debolezze umane.

La prefigurazione di strategie didattiche innovative richiede non solo che si tenga conto delle considerazioni premesse, ma che ci si disponga a intervenire a diversi livelli: innanzitutto sul progetto formativo complessivo (in quanto determina il contributo specifico assegnato alle discipline scientifiche), quindi sui contenuti dell'insegnamento e sul relativo grado di contestualizzazione, sulle forme della comunicazione, sull'ambiente (con riferimento alle strategie, elaborate per lo più in ambito psicologico, volte ad agevolare l'apprendimento, particolarmente utili per il sostegno di alunni in difficoltà), sulla preparazione degli insegnanti.

Non è questa l'occasione per esaminare possibili revisioni dei contenuti, ai quali peraltro sono state dedicate apprezzabili linee di tendenza in sede di definizione degli standard per l'educazione scientifica nelle scuole statunitensi (MacLwan, 1995): si raccomanda attenzione all'acquisizione di concetti e impegno in attività sperimentali, e al contempo si sostiene la riduzione del numero di informazioni da imparare affermando che *"l'evidente esigenza di includere nei libri di testo tutti gli argomenti, i termini e le informazioni è in diretto conflitto con il fondamentale obiettivo formativo: l'apprendimento significativo di sapere scientifico da parte degli alunni"*. Quindi, minore rilevanza della quantità dei saperi presi in considerazione a favore di una qualità che coincide con la possibilità di riflettere proficuamente sulla fenomenologia naturale e con l'impostazione del processo di educazione permanente, rendendo lo studente capace di continuare a conoscere autonomamente.

È certamente importante prendere in considerazione la comunicazione, in ragione della rilevanza assoluta e di quella che assume per l'insegnamento della Biologia.

### Per comunicare

In generale è atteso un esito soddisfacente se chi emette un messaggio e chi lo riceve dispongono di confrontabili competenze lessicali, sintattiche e logiche, di pre-conoscenze equivalenti (ovvero gradi simili di approfondimento della materia trattata) e di interessi compatibili. Quando gli interlocutori sono l'insegnante e lo studente si determina un paradosso: sebbene l'interesse sia il medesimo, ovvero la realizzazione di un processo formativo efficace, le competenze e le conoscenze sono per definizione inconfrontabili. Ecco dove nasce il generale problema della comunicazione didattica che si aggrava nel caso della Biologia, dal momento che, come afferma Ernst Mayr (1982/1990), *"invece di formulare leggi i biologi organizzano abitualmente le loro generalizzazioni con modelli concettuali"*.

" $ax^2 + bx + c = 0$ ": l'equazione di secondo grado e ogni altra formula matematica sono esempi di un linguaggio che, se è noto, non è ambiguo. Stessa considerazione può essere riferita al secondo principio della termodinamica " $F/a = m$ " o alla formula chimica del glucosio. Si tratta di messaggi che, acquisiti i principi denotativi, sono compresi da tutti allo stesso modo.

Ora si esamini una espressione della biologia. "A questo principio, grazie al quale ogni più piccola variazione, se utile, si conserva, ho dato il nome di selezione naturale, per farne rilevare il rapporto con le capacità selettive dell'uomo". (Darwin, 1859/2000).

In due righe sono utilizzati termini polisemici ("principio": concetto fondamentale o idea originaria?; "variazione": fenotipica o genotipica?) ed espressioni ambigue ("le capacità selettive dell'uomo": l'azione o la metodologia di selezione?; "si conserva": si mantiene inalterata o persiste nel tempo?).

Se lucidamente si sottopone a questo tipo di analisi un qualsiasi testo di argomento biologico e se si inibiscono quei processi inferenziali che il lettore esperto attiva automaticamente, non sarà facile "capire" e, soprattutto, persone diverse tenderanno a "capire" diversamente.

Ernst Mayr incalza: "Con ogni probabilità il progresso delle scienze biologiche è in gran parte una questione di sviluppo di concetti e di principi. Il processo della sistematica fu caratterizzato dal consolidamento e dall'affinamento di concetti quali classificazione, specie, genere, ordine e così via; quello della biologia evoluzionistica dal miglioramento di concetti quali discendenza, selezione e fitness. Concetti chiave analoghi potrebbero essere elencati per ogni ramo della biologia".

Quindi solo l'esperto, colui che ha compiuto studi nel settore, che ha seguito gli sviluppi della disciplina, che ha utilizzato il lessico specialistico nell'interazione con pari, che lo ha messo alla prova per appropriarsi della letteratura corrente, accede pienamente al significato del testo. L'esperto-insegnante spesso, purtroppo, è anche portato a ritenere che l'utilizzo del termine "giusto" veicoli una corretta concettualizzazione. Ne consegue una sorta di predilezione per le definizioni e per il libro di testo, referente fondamentale, se non unico.

Un altro problema della comunicazione si manifesta paradossalmente quando il messaggio è modificato tendenziosamente per "adattarlo" a chi lo riceve. Nella



**Figura 6** - Circuito di trasmissione-ricezione dell'informazione scientifica e principali elementi di disturbo

Figura 6 sono messe in relazione le quattro componenti fondamentali della società che sono interessate alla conoscenza scientifica (i ricercatori, gli insegnanti, i mass media e la gente comune). Nell'interazione tra queste componenti è facile individuare fattori che introducono elementi di disturbo, veicoli di ambiguità ed equivoci.

Illustrando gli obiettivi e gli esiti della sua ricerca, se si rivolge a un vasto pubblico lo scienziato tenderà a enfatizzare gli aspetti che possono procurargli ammirazione e risorse, mentre farà ricorso a una arbitraria semplificazione se il suo interlocutore è un insegnante; il giornalista commenterà una notizia in modo da garantirsi la fedeltà di chi acquista un quotidiano e vuole poterne condividere le opinioni; i cittadini, durante o dopo la formazione scolastica, pretenderanno di adattare alle esigenze della vita di ogni giorno i saperi via via acquisiti. In sintesi, sono gli interessi degli interlocutori che alterano – selezionando, omettendo, enfatizzando – l'oggetto della comunicazione e così compromettono irrimediabilmente il rigore e la correttezza peculiari del discorso scientifico.

Sono interessanti le considerazioni pubblicate dalla rivista *Risk Analysis* (Fischhoff, 1995) a proposito delle strategie adottate, in ambito politico o di mercato, nella presentazione di oggetti o eventi potenzialmente "rischiosi", al fine di sollecitarne l'accettazione da parte di destinatari o utenti. L'esame di messaggi reali indica una prassi che consiste in una serie di tattiche: *trovare i numeri giusti* (ovvero selezionare "opportuni" dati!), *comunicare i numeri* (a uomini comuni, alle possibili vittime), *spiegare come si interpretano i numeri* (ovvero orientare "opportunamente" la formazione di un'opinione!), *dimostrare che in passato hanno accettato rischi simili, dimostrare che per loro è un buon affare, trattarli gentilmente, renderli partner, fare tutto ciò che è elencato sopra.*

Dunque, ci sono buoni motivi per inserire in un progetto di formazione alla comunicazione scientifica l'impostazione di vincoli etici che impediscano di perseguire obiettivi estranei all'oggetto della comunicazione quando si emette un messaggio, e di strumenti che consentano di riconoscere tali obiettivi quando lo si riceve. In ogni caso l'obiettivo primario rimane la facilitazione della costruzione di conoscenza.

### **Costruire ovvero sopraelevare o ristrutturare**

L'edificazione di un fabbricato dalle fondamenta o di una superfetazione non si presta a rappresentare metaforicamente la costruzione di conoscenza scientifica. In considerazione dell'esistenza di una struttura preesistente e dell'esigenza di organicità, è più opportuno fare riferimento alla sopraelevazione (se le preconoscenze sono adeguate e solide) e alla ristrutturazione (se non lo sono). È quindi richiesto:

a) di esaminare l'esistente (ovvero, in termini edilizi: i materiali che lo compongono, la conformazione, lo stile, la solidità);

b) di disporre di un progetto esperto fondato sulla valutazione dell'opportunità dell'intervento (i rischi e i benefici), delle finalità (messe in relazione con le esigenze), e delle modalità di realizzazione (messe in relazione con le risorse);

c) di eseguire l'intervento verificando via via l'idoneità dei materiali utilizzati, la congruenza della conformazione e dello stile, la solidità dell'esito.

L'insegnante che assume questo impegno corre un rischio che conviene esplicitare.

Il percorso universitario, gli studi, la tesi, i concorsi, tendono a consolidare l'idea che i saperi scientifici siano "giusti": se ne deduce quasi automaticamente



che saperi non scientifici sono “sbagliati”. Ebbene, è stato ampiamente dimostrato che i saperi definiti “conoscenze di senso comune” e saperi non validati da una spiegazione semplificano la vita quotidiana, che si tratti di concezioni (il movimento del Sole nella volta celeste, l’influenza delle fasi lunari sulle pratiche agricole, l’incidenza delle “voglie” materne sul nascituro) o di norme di comportamento (non si usa l’asciugacapelli quando si è immersi nella vasca, non si fa il bagno durante la digestione, non si mangiano molluschi nei mesi senza “r”).

Una formazione scientifica orientata a evitare ogni forma di destabilizzazione tenderà a impostare norme di reazione che configurino corrette modalità di coesistenza di saperi diversi. Laddove la conoscenza di senso comune si riveli insufficiente o inadeguata, si sarà disponibili a recuperare informazioni e norme scientifiche. A scuola, durante un esame o una prova di concorso, si prescinderebbe consapevolmente dai propri saperi “non scientifici”.

Ciò è possibile se una effettiva consapevolezza del proprio sapere è stata prefigurata riflettendo in modo sistematico sulle definizioni degli oggetti e sulle spiegazioni dei fenomeni: cosa so, come lo so (in che modo organizzo logicamente ciò che so), quando utilizzo il mio sapere (come lo contestualizzo), cosa di ciò che so conferma o contrasta il sapere scientifico corrente.

Allo scopo possono essere adottate due strategie versatili e collaudate: la “mappa concettuale” e la “*buzz-session*”.

La **mappa concettuale**, sebbene non sia più considerata una panacea come avrebbe preteso il suo ideatore venti anni fa in clima di costruttivismo radicale (Novak e Gowin, 1984/89), fornisce una occasione efficace per ripescare informazioni e indizi che si considerano pertinenti rispetto a una parola-concetto, e per ordinarli logicamente. Un insegnante metterà alla prova il proprio grado di padronanza della materia, esprimendola in modo tendenzialmente esaustivo; un alunno fornirà indizi su cosa e come ha imparato.

Per un esercizio pratico si scelga un argomento (*ereditarietà*), si scrivano tutte le parole che si ritiene sarebbe necessario utilizzare per formulare un articolato discorso sull’argomento (*cromosoma\**, *DNA*, *dominanza*, *fenotipo\**, *gamete*, *gene\**, *meiosi*, ...), si individuino sensate linee di sviluppo del discorso (*basi molecolari*, *processi cellulari*, *modalità di manifestazione dei caratteri*, ...), si assegnino le parole alle diverse linee di sviluppo e le si ordinino gerarchicamente in modo che corrispondano a una spiegazione svolta a partire dai concetti più generali fino a concetti specifici e particolari, quali gli esempi.

Quanto alle modalità di uso didattico, sono stati messi a fuoco i rischi delle mappe “oggettive”, ovvero di rappresentazioni di conoscenza che pretendono di essere complete, corrette (come quelle che aprono o chiudono i capitoli di molti libri di testo): stimolerebbero l’apprendimento “a memoria”, deprimerebbero la motivazione e il coinvolgimento attivo, cristallizzerebbero gli assetti di conoscenza in blocchi monolitici. In sintesi, metterebbero in atto una sorta di plagio cognitivo.

Se invece la mappa viene costruita, possibilmente in modo collaborativo, se la si ritiene provvisoria e contingente, si esprimerebbe al meglio l’efficacia rispetto al chiarimento di concetti, alla definizione di schemi concettuali, all’individuazione di misconcetti, al superamento di ostacoli cognitivi, alla progettazione/sperimentazione di attività educative, alla promozione dell’autovalutazione.

La seconda strategia è detta ***buzz-session*** (sessione di bisbigli) ed è ampiamente utilizzata da oltre mezzo secolo per favorire la socializzazione e il confronto

tra i partecipanti a seminari, congressi, corsi.

Una modalità di attuazione adatta alla sede e alla finalità scolastiche è la seguente: ogni componente di un gruppo non troppo ampio si esprime scrivendo su un foglio un parere, un'opinione, una risposta. Quindi le persone che si sono espresse si riuniscono, leggono tutti gli elaborati, confrontano le diverse formulazioni e, impegnandosi in attività di "negoiazione", si propongono di realizzare una selezione che salvaguardi solamente le asserzioni che sono state valutate concordemente le più significative e importanti. Ogni partecipante è personalmente coinvolto dal momento che si è espresso e ha tentato di convincere gli altri a mantenere o a non scartare la propria opinione, argomentando la validità della propria posizione (spesso assunta istintivamente) e analizzando criticamente le posizioni altrui. La consegna della obbligatoria riduzione del numero di opinioni/posizioni formulate produce accumulo e approfondimento di conoscenza, e, soprattutto consapevolezza.

### Apprendimento attivo e cooperativo

Da qualche anno in tutti i paesi occidentali sono condotte ricerche volte a favorire la costruzione di conoscenza a scuola, facendo prevalentemente leva sulle cosiddette strategie di apprendimento attivo e cooperativo, ovvero su strategie che letteralmente impediscono allo studente di fruire passivamente dell'offerta didattica.

Al livello più elementare si tratta di creare in classe un clima, una norma per cui gli studenti si aspettano di essere interpellati, o comunque di esporsi alla attenzione e alla valutazione dei compagni e dell'insegnante.

D.R. Paulson e J.L. Faust (1998) hanno fornito una serie di suggerimenti etichettandoli in modo suggestivo: il **sorteggio** (ogni studente scrive una domanda sulla materia trattata su un foglietto che è introdotto in un sacchetto: l'insegnante estrae uno o più foglietti e dedica una qualche forma di elaborazione alle questioni sollevate), la **domanda d'esame** (ogni studente formula una domanda sulla materia trattata in forma adatta all'inserimento in un questionario: l'insegnante anima un confronto sulle domande in termini di difficoltà e di efficacia rispetto alla valutazione di profitto), **confronto di appunti** (dopo la presentazione di un concetto cruciale, l'insegnante chiede agli studenti di leggere, confrontare e discutere gli appunti).

Un prodotto di non secondaria importanza di queste strategie è costituito dalla verifica di efficacia dell'azione didattica e dalla esplicitazione di rappresentazioni mentali – o veri e propri misconcetti – che possono ostacolare l'apprendimento.

L'esempio (Bandiera *et al.*, 2003) è relativo alla strategia definita **one minute paper** (testo da scrivere in un minuto) che comporta la richiesta da parte dell'insegnante di rispondere per iscritto a una domanda sull'argomento appena trattato. All'università, dopo una lezione (di necessità frontale, in considerazione dell'elevato numero di studenti) sul ciclo della materia, è posta la domanda: *"Come mai il suolo della foresta amazzonica è povero di sali minerali?"* L'insegnante analizza le risposte e, tra alternative più o meno corrette, nota: *"La foresta è troppo fitta e le sostanze non riescono a passare e a filtrare"*, *"La luce non filtra e gli alberi non possono produrre i sali"*. Un sospetto, una rapida indagine, poi la certezza che un notevole numero di studenti sono orientati a ritenere che le piante, grazie alla fotosintesi, possano produrre anche i sali minerali.

Dieci minuti in aula e mezz'ora di lavoro per mettere a fuoco una concezione – che nessun insegnante, per quanto fantasioso, avrebbe potuto immaginare – in



grado di compromettere l'approccio con la fisiologia vegetale, e non solo.

Le strategie relative all'apprendimento cooperativo, entusiasticamente sostenute da T. R. Lord (2001) e ampiamente sperimentate (in Italia, Bandiera e Bruno, 2006), assumono come momento fondamentale l'interazione tra gli alunni. L'insegnante ha prevalentemente il ruolo di facilitatore, ovvero di moderatore, talora di consulente o di verbalizzatore.

Le tre strategie più note e collaudate sono il *problem-based learning* (Angeli, 2002), il *concept-cartoon* (Keogh e Naylor, 1997) e il *role-playing* (Blatner, 2002).

Un primo esempio è dedicato al **problem-based learning** (PBL) ovvero all'azione didattica imperniata su un problema "reale" che può essere risolto utilizzando conoscenze e competenze già disponibili nel gruppo di alunni-risolutori, ma soprattutto mettendo a fuoco le carenze e adoperandosi a colmarle.

Ecco il testo di un problema:

"Il responsabile delle edizioni RAI-ERI ti sottopone i due brani seguenti tratti dal libro "Domino" di D. Cugia (2000) che ha ispirato uno sceneggiato di grande successo:

(pag. 150) *Le fu spiegato, con il tatto dovuto, che i cinesi lavoravano segretamente alla clonazione umana sin dai primi anni sessanta. «Essi riuscirono a ricavare la sequenza del DNA dal bulbo di un capello, a isolare una delle cellule somatiche e a prelevarne il nucleo. Dieci anni più tardi scoprirono come riuscire a impiantarli nel citoplasma\* di un uovo femminile al quale era stato neutralizzato in precedenza, con raggi ultravioletti, il proprio nucleo originario».*

(pag. 136) *«Quanto impieghi adesso per arrivare al prodotto finito?» «Per la gravidanza della madre bionica artificiale nove giorni, contro i nove mesi di madre natura». rispose Tung con orgoglio. «Questo per il clone\* neonato», osservò il Venerabile. «E per svilupparlo fino all'età equivalente del soggetto originale?» L'inventore illustrò di essere riuscito ad alterare i geni del tempo, velocizzando la crescita dei cloni adulti ... «Nelle vasche teacher, grazie ai simulatori virtuali e agli elettrodi collegati con le strutture neuronali, i cloni evolvono dalla primissima infanzia alla maturità».*

Ti vengono affidati due compiti:

a) la correzione formale del testo (ovvero la sostituzione di termini ed espressioni che appaiono ambigui o scorretti dal punto di vista scientifico anche se non si entra nel merito del procedimento descritto);

b) una valutazione della credibilità o fattibilità del procedimento.

Ti è richiesto di argomentare sia le correzioni, sia le valutazioni al fine di convincere eventualmente l'autore ad apportare le opportune modifiche nella prossima edizione del libro."

(È abbastanza chiaro che si tratta di una banda di malvagi che è riuscita a clonare le persone e sostituisce con i cloni personaggi politici importanti, per impadronirsi del mondo.)

È un compito adatto a mettere alla prova gli esiti di una introduzione alle tecniche dell'ingegneria genetica, imponendo una riflessione sul significato di termini specialistici (*clonazione, sequenze del DNA, evoluzione, ...*) e un approfondimento sul terreno metodologico (*neutralizzazione del nucleo, alterazione dei geni del tempo, elettrodi collegati con le strutture neuronali, ...*). Ed è al contempo un verosimile incarico di revisione da affidare a un esperto.

Il **concept cartoon** sostituisce il problema con una situazione, con un accadimento, e restringe l'ambito di ricerca delle soluzioni a quelle espresse dai protago-

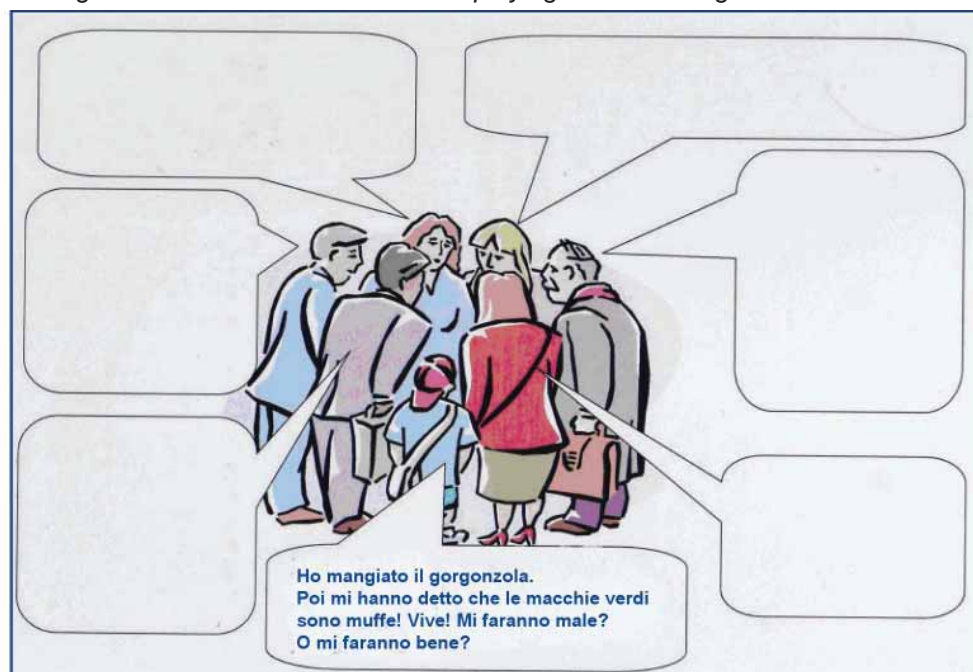
nisti della vignetta che sono di norma definite dall'insegnante con riferimento agli aspetti più significativi della questione e anche in base agli errori più frequenti. Ogni studente dovrà prendere posizione, accettando o rifiutando una delle affermazioni, motivando la propria posizione e confrontandola con quella degli altri componenti del gruppo, con i quali raccoglierà informazioni e discuterà fino ad arrivare a una conclusione condivisa.

Il *concept cartoon* (un esempio in Figura 7) può essere usato anche per esplorare le concezioni e i punti di vista. Sarà formulato "il caso" ma saranno lasciate vuoti i "fumetti". Gli studenti completeranno la vignetta esprimendo liberamente risposte e soluzioni, senza timore di "sbagliare", dal momento che il *concept cartoon* deve proporre anche concezioni sbagliate.

Il *role-playing* consiste nell'assunzione di ruoli da parte degli studenti all'interno di una situazione reale costruita o selezionata in modo tale che risultino coniugati aspetti di interesse disciplinare con quegli aspetti psicologici, sociali, economici, che caratterizzano la normale complessità dei problemi. Il ruolo dell'esperto nello specifico, lo scienziato, favorisce l'approfondimento della questione in ambito disciplinare (ciò che di norma persegue con una lezione tradizionale o con una "ricerca"), tutti gli altri ruoli impongono di adottare punti di vista diversi e di prendere in considerazione anche i valori.

Complessivamente ci si confronta con le opinioni altrui.

Di norma sono affrontati casi assai seri, di attualità: inquinamento ambientale, tossicità dei farmaci, diffusione di prodotti biotecnologici, con la partecipazione di lavoratori di industrie inquinanti, rappresentanti di organismi non governativi che operano in paesi del terzo mondo, dirigenti di multinazionali, ... Non è difficile però immaginare situazioni adatte a un *role-playing* condotto da giovani studenti:



**Figura 7** - Esempio di vignetta (*concept-cartoon*) elaborata al fine di esplorare concezioni degli studenti sul terreno alimentare e tossicologico

"La famiglia è riunita per il pranzo domenicale. Si parla con preoccupazione della salute di Paolino che dopo una cena al ristorante cinese è pallido come un cencio e ha una irrefrenabile diarrea. Gli è già successo: le altre volte dopo un paio di giorni si è rimesso spontaneamente. Forse è il caso di capire cosa gli succede e di prendere provvedimenti".

Si può prevedere l'intervento della nonna (vive in campagna, è saggia, propensa a ricorrere ai rimedi tradizionali), della mamma (lavora come operaia in una industria farmaceutica, è apprensiva), il babbo (è appassionato di psicologia, fiducioso nelle risorse di un organismo "sano"), Francesca (adolescente, gelosa dell'attenzione che viene dedicata a Paolino), Lita (la domestica cinese, conosce bene gli ingredienti caratteristici della cucina cinese). Ogni partecipante all'azione si procurerà le informazioni che gli consentano di rispettare il personaggio, saranno formulate e vagliate ipotesi diverse relative alle possibili cause del malessere e alle possibili modalità di intervento. Si arriverà quantomeno a definire una linea di condotta che non turbi eccessivamente gli equilibri domestici e che abbia qualche probabilità di risolvere il problema di Paolino. In ogni caso si verificherà l'importanza del rispetto per opinioni diverse dalle proprie e della capacità di argomentare e negoziare.

Nella accezione originale "negoziazione" ha a che vedere con il rapporto che si stabilisce tra il venditore e il compratore: hanno entrambi buone ragioni, l'uno per vendere al massimo prezzo e l'altro per comperare al minimo prezzo. Occorre disporre di argomenti che convincano l'altro e la ricerca, la riflessione, la formulazione degli argomenti aiuta la consapevolezza (perché ho assunto questa posizione? su cosa posso far leva per convincerti che ho ragione?). La pratica della negoziazione mostra in maniera concreta che per arrivare all'esito di una controversia è necessario conoscere e rispettare le idee dell'altro. Percepire che le controversie non si risolvono pretendendo di affermare la propria convinzione senza confrontarla con la convinzione dell'altro è un momento formativo importante.

## Contributi

Possono essere – e sono state – ideate attività più o meno impegnative che consentono di praticare l'apprendimento cooperativo, di coinvolgere gruppi o l'intera classe, di avvantaggiarsi della partecipazione attiva di più studenti e del confronto tra posizioni diverse. Quella che potrebbe essere etichettata **caccia all'errore** richiede poco tempo e può ancorarsi facilmente a episodi di vita quotidiana.

Si impegnano gli studenti su un testo anche breve: "*HapMap, la mappa degli aplotipi\* umani. Dall'analisi del genoma\* di 268 individui, l'inizio della fase di ricerca per le cure individuali. Il codice genetico\* è sovrapponibile, in tutti gli esseri umani, per il 99,9 per cento, ma c'è uno 0,1 per cento che fa la differenza. È quella differenza che spiega perché una persona ha gli occhi marroni e una azzurri o perché un individuo è predisposto al diabete o ai tumori o all'infarto*" (Bioforum news, anno 2, n° 10, 21 novembre 2005):

Per procedere alla eliminazione di espressioni inesatte o ambigue, ci si domanderà innanzitutto cosa significa l'espressione *il codice genetico è sovrapponibile*. Propriamente il *codice genetico* fa riferimento alle regole di abbinamento tra i codoni dell'mRNA e gli aminoacidi\* che compongono la corrispondente proteina, ma certo non ha senso sottolineare che nelle cellule di tutti gli uomini un codone (ad esempio, UUU) determina l'inserimento nella proteina del medesimo aminoacido

(la fenilalanina). Quanto al fatto che le sequenze geniche (così ci si orienterebbe a correggere "codice genetico") siano sovrapponibili, sembra probabile si voglia intendere che le sequenze geniche che costituiscono il genoma di uomini diversi sono estremamente simili.

È più sostanziale l'equivoco indotto dalla valutazione del 99,9% di identità. Considerata la composizione del genoma umano, si giungerà a individuarlo: il testo fa riferimento ai soli geni strutturali, ovvero a una frazione delle sequenze di DNA inferiore al 10% dell'intero genoma. Ragionare esclusivamente su questa componente porta a sottovalutare indebitamente le funzioni della componente quantitativamente prevalente del DNA, ancora poco conosciuta, ma certamente rilevante sul terreno sia ontogenetico, sia filogenetico.

La caccia potrà partire dalla lettura di un quotidiano: "*Gay come nasci? ... in gemelli omozigoti, se uno è gay l'altro ha il 50% di possibilità di esserlo a sua volta ... , e la percentuale cala al 20 nel caso di eterozigoti*" (la Repubblica (Suppl. Donna) 12 novembre 2005).

Sul piano lessicale non è corretto parlare di *50% di possibilità*: infatti il verificarsi di un evento è possibile o impossibile; nel caso sia possibile, la *probabilità* che si verifichi sarà espressa in percentuale. È più grave il sospetto che gemelli con gli occhi azzurri (omozigoti: "aa") siano più frequentemente gay di quanto non lo siano gemelli con gli occhi marroni (eterozigoti: "aA"). L'errore potrà essere corretto utilizzando termini idonei (monozigotico/dizigotico, uniovulare/biovulare).

La consultazione del vocabolario stimolata dalla lettura del testo precedente suggerisce l'opportunità di indirizzare la "caccia all'errore" anche alle voci di opere qualificate come lo Zingarelli: "*eterozigote: individuo derivante dall'unione di gameti a fattori ereditari diversi*", "*omozigote: individuo derivante dall'unione di gameti a fattori ereditari uguali*". Come rendere significativa e corretta l'espressione *a fattori ereditari diversi*? Come si può modificare l'espressione introducendo il termine *gene*? Ci si può chiedere se il vocabolario vada d'accordo con il libro di testo, che è spesso definitorio. Si individueranno identità e differenze, potrà essere discussa la significatività: le differenze rilevate sono concettuali o attengono semplicemente all'uso di termini diversi?

Perché non esercitare la "caccia all'errore" direttamente sul libro di testo? Sarebbe perseguito un triplice obiettivo.

Il primo è quello specifico: individuare lacune e ambiguità dell'informazione, improprietà o difficoltà dei termini e delle rappresentazioni grafiche, ridondanza o carenza dell'apparato iconico.

Il secondo obiettivo è rappresentato dall'opportunità per l'insegnante di individuare i problemi soggettivi degli studenti nel rapporto con il libro di testo adottato.

Il terzo riguarda la promozione dell'atteggiamento analitico e critico, che è componente essenziale del progetto formativo in ambito scientifico.

Per concludere alcuni spunti per la progettazione di azioni didattiche coerenti con il tema del corso e con l'impostazione metodologica fin qui sostenuta.

**1. L'informazione scientifica nascosta.** Studenti anche di scuola media muniti di telefoni cellulari multifunzioni o di audio- e videoregistratori potranno collezionare (da manifesti stradali, da spot televisivi, da quotidiani e riviste) messaggi che veicolano concetti e concezioni scientifiche. Questi ultimi saranno individuati e ne sarà valutata la correttezza e la congruenza. L'azione formativa si avvarrà quindi sia dell'approfondimento in ambito disciplinare, sia dell'esercizio di decodifica applicabile alla comunicazione dei *mass-media*.

2. **I pericoli chimici dell'ambiente domestico.** Se ogni studente trascriverà per esteso l'etichetta di un prodotto utilizzato o comunque presente in casa sarà possibile mettere a fuoco le tipologie di restrizioni d'uso e di pericolosità, raffrontandole con le pratiche abituali e facendone oggetto di consapevolezza collettiva.

3. **La classifica dell'esposizione a sostanze tossiche.** Gli studenti individuano sostanze presumibilmente tossiche alle quali sono esposti volontariamente o involontariamente, costantemente o occasionalmente. Dopo una fase di ricerca per la caratterizzazione della tossicità in termini sia qualitativi, sia quantitativi, si elaborerà collaborativamente una classifica di pericolosità tenendo conto delle condizioni di esposizione, della concentrazione, della tipologia e persistenza del danno provocato, ecc.

È probabilmente superfluo sottolineare *a posteriori* che i suggerimenti e le indicazioni tesi a orientare l'innovazione didattica hanno in comune l'arricchimento dell'informazione grazie al contributo di tutti i membri della comunità dei discenti e il graduale adattamento dell'informazione all'assetto di conoscenze di ognuno grazie alle sistematiche pratiche di consultazione, confronto e discussione.

#### Riferimenti bibliografici

Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/microsome mutagenicity test. *Mutation Res* 1975;31:347-61.

Angeli C. Teachers' practical theories for the design and implementation of problem-based learning. *Sci Education Intern* 2002;13(3):9-15.

Ayala FJ. Biology as an autonomous science. *Amer Sci* 1968;56:207-21.

Bandiera M. La Genetica è un'opinione. In: G. Cortini (a cura di). *Incontrare la Scienza*. Firenze: La Nuova Italia; 1990.

Bandiera M. Valutazione di padronanza in ambito bionaturalistico: i test a scelta multipla. *UeS, X, 1/R* 42-52;2005.

Bandiera M, Dupré F, Sèrè MG, et al. *Teachers images of science and labwork. Hypotheses, research tools and results in Italy and in France*. Working paper n. 5, Labwork in Science Education Project, PL 95-2005, TSERP, EC DG XII; 1998.

Bandiera M, Di Giamberardino M, Lorenzi C. Active/cooperative learning strategies in primary school teachers' initial training. In: *Proceedings of the ESERA Conference 2003 "Research and the quality of Science education"* (p 48-49). Noordwijkerhout, The Netherlands; 2003.

Bandiera M, Bruno C. Active/cooperative learning in schools. *J Biol Education* 2006;40:130-4.

Blatner A. Role playing in education. Disponibile all'indirizzo: <http://www.blatner.com/adam/pdn-tbk/rlplayedu.htm>.

Cugia D. *Domino*. Roma: RAI-ERI; 2000.

Darwin C. *L'origine delle specie*. Roma: Newton & Compton; 1859/2000.

Durant J. Alfabetizzazione scientifica. *Prometeo* 1994;11(45):137-42.

Facchini F. Evoluzione e creazione. *L'Osservatore Romano* 16-17 gennaio 2006.

Fischhoff, B. Risk perception and communication unplugged: twenty years of process. *Risk Analysis*, 1995;15:137-45.

Gaggi M. Topo con cervello umano: la nuova chimera. *Corriere della Sera* 12 maggio 2005.

- Keogh B, Naylor S. *Starting points for science*. Sandbach UK: Milligate House Publishers; 1997.
- Klopfer LE. Evaluation of learning in science. In: BS Bloom, JT Hastings, GF Madaus (Eds.). *Handbook of formative and summative evaluation of student learning*. London: McGraw-Hill; 1975.
- Lord TR. 101 reasons for using cooperative learning in biology teaching. *Am Biol Teacher* 2001;63:30-9.
- MacIlwain C. School standards stress scientific literacy. *Nature* 1995;378:528.
- Maugh TH. Chemical carcinogens: the scientific basis for regulation. *Science* 1978;201:1200-5.
- Mayr E. *Storia del pensiero biologico*. Torino: Bollati Boringhieri; 1982/1990.
- Novak JD, Gowin JD. *Imparando a imparare*. Torino: Societa Editrice Internazionale; 1984/89.
- Paulson DR, Faust JL. Active learning in the college classroom. *J Excell College Teaching* 1998;9(2):3-24.
- Rossner M, Yamada KM. What's in a picture? The temptation of image manipulation. *J Cell Biol* 2004;166:11-5.
- Sudbø J, Lee JJ, Lippman SM, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of oral cancer: a nested case-control study. *The Lancet* 2005;366:1359-66.
- Zingarelli N. *Vocabolario della lingua italiana*. Bologna: Zanichelli; 1995.



# INTRODUZIONE ALLA TOSSICOLOGIA

Emanuela Testai

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

## Introduzione

La tossicologia viene considerata una scienza relativamente nuova, che integra competenze multidisciplinari. Per spiegarne la complessità, è utile ricordare la definizione del tossicologo Arnold J. Lehman, il quale afferma che *La tossicologia è una scienza che può essere spiegata in due sole lezioni, ognuna delle quali dura dieci anni.*

In realtà, la tossicologia ha origini molto antiche, quando rappresentava, più che una scienza, l'arte dei veleni e delle pozioni, come suggerito anche dalla etimologia del termine. Si pensa infatti che derivi dal greco *toxon*: così veniva chiamata la freccia la cui punta era intinta nel veleno per uccidere gli avversari in battaglia. Secondo altri, invece, il termine deriverebbe dal nome dell'albero *taxus* dal cui legno si ottenevano le frecce migliori e dalla cui bacca veniva estratto il veleno di cui la punta della freccia veniva imbevuta. Nell'arco dei secoli, la scienza tossicologica ha subito continue evoluzioni: inizialmente si osservavano i fenomeni e si catalogavano, con un approccio essenzialmente descrittivo e qualitativo; successivamente, ci si è avvicinati alla sperimentazione facendo analisi, cercando di riprodurre i fenomeni per comprenderli fino alla grande rivoluzione galileiana in cui si è passati dall'approccio qualitativo alla quantificazione dei fenomeni, splendidamente sintetizzato dal motto di Galileo: *Misura ciò che può essere misurato e rendi misurabile ciò che non lo è.* Il concetto rende l'idea di quello che oggi è il compito del tossicologo: cercare di tradurre dei fenomeni che a prima vista sembrano estremamente complessi e casuali in qualcosa di quantificabile. Questo passaggio è fondamentale per il tossicologo per applicare le conoscenze acquisite dall'attività sperimentale di ricerca alla protezione della salute umana e dell'ambiente, facendo valutazioni di rischio e suggerendo limitazioni d'uso e/o misure di riduzione dei livelli di contaminazione. Quindi, l'esperienza che viene dal mondo della ricerca viene tradotta, a livello regolatorio, in azioni che mirano a proteggere la salute dell'uomo anche attraverso il miglioramento della qualità dell'ambiente.

La tossicologia si occupa, quindi, di identificare gli effetti che una sostanza può provocare quando sia venuta in contatto con un organismo. Il primo concetto da sfatare è che solo le sostanze chimiche di sintesi sono potenzialmente tossiche mentre le sostanze naturali sono di per sé sicure. Niente di più sbagliato, come si vedrà in seguito.

## La fase tossicocinetica

Perché una sostanza a cui un organismo è esposto possa in qualche modo esplicare il proprio effetto tossico, è necessario che entri a contatto con l'organismo e possa penetrare al suo interno (Figura 1). Quella parte della tossicologia che viene chiamata *tossicocinetica* è la descrizione di una serie di fenomeni normalmente denominati ADME (assorbimento, distribuzione, metabolismo, escrezione):





**Figura 1** - Schema delle diverse fasi dell'interazione tra uno xenobiotico (X) e l'organismo

Le *principali vie di ingresso*:  
 mucosa gastrointestinale (via orale)  
 epitelio polmonare (via inalatoria)  
 cute (via dermale)

Le *principali vie di escrezione*:  
 urinaria  
 fecale (via biliare)  
 aria espirata  
 sudore  
 latte materno

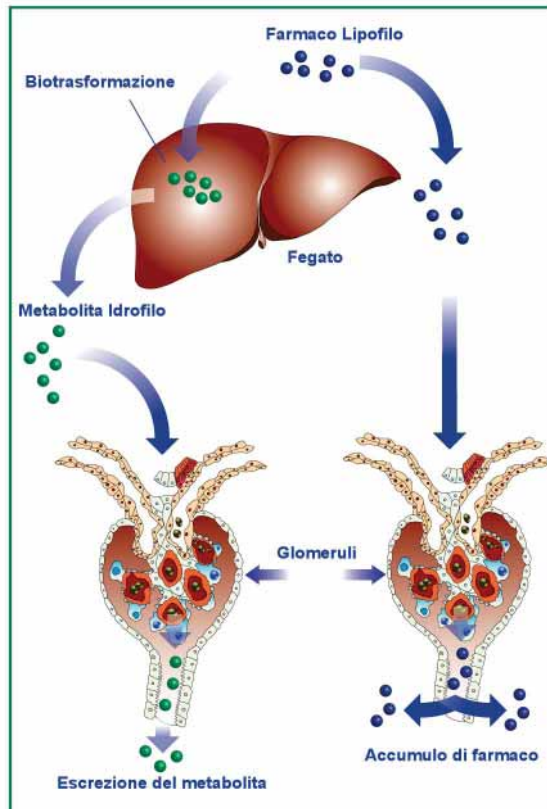
- *assorbimento* della sostanza alla quale si è esposti: la sostanza entra nell'organismo attraverso diverse vie di esposizione (cutanea, attraverso la pelle; inalatoria, attraverso le vie respiratorie; orale, in caso di ingestione; parenterale, se iniettata intravena, intramuscolo o sottocute). A seconda della via di esposizione cambiano i processi che regolano l'assorbimento e influenzano quindi l'interazione con l'organismo;
- *distribuzione*: una volta assorbita, la sostanza entra nel circolo sanguigno attraverso il quale viene poi distribuita a tutto l'organismo;
- *metabolismo*: all'interno dell'organismo la maggior parte delle sostanze viene modificata; esso avviene principalmente, ma non esclusivamente, nel fegato;
- *escrezione* della sostanza: i processi di biotrasformazione eliminano le sostanze attraverso varie vie (urine, feci, sudore, lacrime) (Figura 2).

Riassumendo, la sostanza entra, si distribuisce, viene modificata e viene espulsa. Per poter attraversare le membrane e quindi essere assorbite, le sostanze devono poter attraversare un doppio strato lipidico e devono pertanto avere un certo grado di lipofilia per passare senza dispendio di energia (trasporto passivo). In alcuni casi esistono dei sistemi di trasporto attivo, che consentono a sostanze idrosolubili di penetrare all'interno della cellula: ne sono un esempio i sistemi di trasporto

### A quale scopo gli organismi trasformano gli xenobiotici?

La funzione delle reazioni di biotrasformazione è quella di aumentare l'idrosolubilità degli xenobiotici, evitandone l'accumulo negli organismi favorendone l'escrezione in

ambiente acquoso



**Figura 2** - Effetto dei processi metabolici sull'escrezione dei farmaci. Le sostanze lipofile (solubili nei grassi) sono metabolizzate per formare metaboliti maggiormente idrofili del prodotto di partenza e di conseguenza facilmente eliminabili

di alcuni anioni a livello intestinale e quello degli acidi biliari per gli epatociti. La lipofilicità caratteristica della maggior parte degli xenobiotici (così si definiscono in genere le sostanze estranee all'organismo) fa sì che tendano ad accumularsi nell'organismo, soprattutto nel tessuto adiposo, arrivando al raggiungimento di dosi tossiche. L'eliminazione avviene attraverso soluzioni o mezzi acquosi, per cui le sostanze lipofile non sono facilmente escrevibili. Per questo motivo, durante l'evoluzione è stato selezionato un sistema che permettesse all'organismo di trasformare, attraverso una serie di reazioni enzimatiche, le sostanze estranee lipofile in molecole più idrofile in modo tale da facilitarne l'escrezione e impedirne l'accumulo nell'organismo.

Il sistema del metabolismo degli xenobiotici è presente in tutti gli organismi con diversi gradi di complessità e nei mammiferi è particolarmente abbondante nel fegato, ma anche altri organi sono in grado di biotrasformare efficientemente molti xenobiotici. Quando i metaboliti che si formano sono meno tossici del composto di partenza

(parentale) si parla di reazioni di detossificazione; al contrario, quando i metaboliti hanno un'attività biologica maggiore (sia relativamente alla tossicità sia all'eventuale azione farmacologica) si parla di reazioni di bioattivazione.

Durante la sua presenza all'interno dell'organismo, la sostanza, o il prodotto della sua trasformazione (metabolita\*), possono interagire con il proprio bersaglio: un recettore\*, una molecola all'interno della cellula, un gene\* sul DNA, generalmente per affinità di tipo chimico o chimico-fisico, inducendo un effetto benefico (farmaco) o nocivo (tossico) a seconda del tipo di sostanza. Questa fase viene normalmente chiamata *tossicodinamica*.

### I test tossicologici

Come facciamo a sapere quando una sostanza ha un effetto? Normalmente vengono eseguiti dei test tossicologici, che possono essere distinti sulla base di:

- durata dell'esposizione. Se l'esposizione è singola, di breve durata e ad alta concentrazione si parla di esposizione acuta, che può essere rappresentativa di casi di avvelenamenti, intossicazioni o incidenti, come nel caso di camion

che trasportano sostanze nocive e che a seguito di un incidente, sversano massicciamente nell'ambiente il loro carico. Oppure i test possono essere cronici, quindi mimare un'esposizione che dura per tempi lunghi. Generalmente, quello che differenzia queste due modalità di esposizione è anche il livello di dose. L'esposizione di tipo cronico è generalmente associata a dosi molto basse, ripetute per tempi lunghi;

- tipo di effetti che si evidenziano (ad esempio, test di irritazione cutanea, di genotossicità che riguardano l'attività sul DNA, di tossicità riproduttiva);
- tipo di tecnica utilizzata. Esistono studi che sono prettamente chimico-analitici, test di tipo biologico, test biochimici.

In ogni caso, quali che siano gli studi che vengono condotti, l'obiettivo è sempre quello di identificare i rischi che la sostanza ha nei confronti della salute dell'uomo e della qualità dell'ambiente, per condurre una valutazione dei rischi connessi alla sua esposizione.

## Il processo di valutazione del rischio

Il processo di valutazione del rischio tossicologico può essere suddiviso in quattro fasi: *hazard identification*, *relazione dose-risposta*, *valutazione dell'esposizione*, *caratterizzazione del rischio*. La prima fase viene chiamata *hazard identification* (identificazione del pericolo). Nella lingua inglese c'è differenza tra quello che viene chiamato *hazard* (pericolo) e quello che viene identificato come *risk* (rischio). Nella lingua italiana spesso li usiamo come sinonimi, ma in ambito tossicologico non lo sono: il pericolo è una caratteristica intrinseca di una sostanza, mentre il rischio esprime la probabilità che si verifichi un evento tossico.

### Valutazione del rischio tossicologico

Prima fase

**Hazard identification** (identificazione del pericolo degli effetti avversi)

Che differenza tra **pericolo** e **rischio**?

Il **pericolo** è una **caratteristica intrinseca** della sostanza e ne esprime la "pericolosità"

Il **rischio** è la **probabilità** di andare incontro agli effetti avversi che la sostanza può provocare, in caso di esposizione

Facendo un esempio pratico, un leone rappresenta oggettivamente un pericolo non trascurabile per l'uomo. Se ci trovassimo disarmati davanti a un leone, anche il rischio di essere attaccati sarebbe molto elevato; il rischio potrebbe essere diminuito da fattori esterni alla pericolosità intrinseca del leone, che rimane invariata. Ad esempio, se l'animale fosse sazio la probabilità di essere attaccati sarebbe minore, così come lo sarebbe per un domatore di circo. Se lo stesso leone fosse chiuso in gabbia, ovviamente il rischio di essere attaccati tenderebbe a zero (non può mai essere zero, perché la gabbia potrebbe rompersi o potrebbe aprirsi la porta, facendo immediatamente tornare il rischio elevatissimo in virtù del forte pericolo rappresentato dal leone). Rapportando l'esempio alla valutazione tossicologica, il concetto è che se la sostanza è estremamente tossica, ma non c'è alcuna occasione nell'arco della vita di essere esposti a

quella sostanza, o se in caso di esposizione quella sostanza non avesse alcuna capacità di penetrare all'interno dell'organismo, indipendentemente dal suo *hazard* (pericolo), che potrebbe essere anche estremamente elevato, il rischio per la popolazione sarà tendente a zero. Questo concetto è stato ben applicato in alcune fabbriche, dove certi cicli di produzione con uso di sostanze estremamente tossiche sono stati isolati e chiusi, per evitare che ci sia esposizione per i lavoratori interessati, che potrebbe così verificarsi solo in caso di incidente. Paradossalmente, può essere molto più rischiosa per la popolazione l'esposizione a una sostanza poco pericolosa alla quale sia esposta giornalmente e per tempi lunghi, rispetto a una sostanza che ha una tossicità estremamente alta, ma per la quale non ci sia possibilità di esposizione.

### *L'identificazione del pericolo*

Quando identifichiamo il pericolo, ci occupiamo fondamentalmente dell'aspetto qualitativo e rispondiamo alle domande: cosa fa questa sostanza? Quali effetti produce? Come entra, come si muove e si trasforma nell'organismo? Quali tessuti e organi colpisce? Tendenzialmente cerchiamo di capire anche con quale meccanismo lo fa e se sono effetti reversibili o persistenti. Se nel momento in cui viene interrotta l'esposizione l'organismo ha le capacità di recuperare, l'effetto è detto reversibile ed è ovviamente molto meno grave rispetto ad un effetto persistente che, una volta prodotto, perdura indipendentemente dal fatto che continui o meno l'esposizione.

### *La relazione dose-risposta*

Una volta compreso come agisce una sostanza, per passare dall'aspetto qualitativo all'aspetto quantitativo è necessario capire quella che viene chiamata la *relazione dose-risposta*, la seconda fase della valutazione del rischio.

Come esemplificato dalla frase di Paracelso *Omnia venenum sunt: nec sine veneno quicquam existit. Dosis sola facit ut venenum non sit*, l'effetto tossico è strettamente dipendente dalla dose. Anche l'acqua, se bevuta in quantità eccessive, può causare danni gravissimi all'organismo, alterando drammaticamente l'equilibrio omeostatico. Qualsiasi sostanza è in grado di indurre un effetto tossico se assunta in una dose sufficiente. Infatti, uno degli assiomi che regola la tossicologia è trovare una risposta alla domanda: a quale concentrazione/livello si produce l'effetto?

#### **Valutazione del rischio tossicologico**

Seconda fase

**Relazione dose-risposta.** Aspetto quantitativo

*Omnia venenum sunt: nec sine veneno quicquam existit.*

*Dosis sola facit ut venenum non sit* (Paracelso)

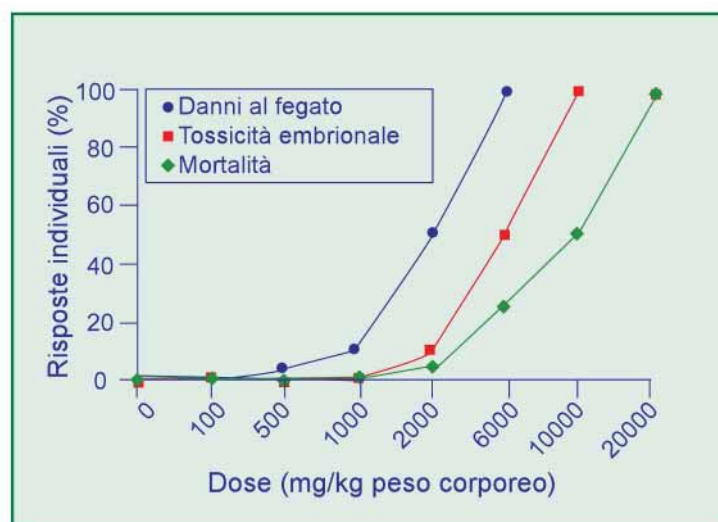
#### **A quale concentrazione si osserva l'effetto?**

Il "livello efficace" si raggiunge attraverso:

*una singola esposizione* (acuta e generalmente elevata) → incidenti, avvelenamenti  
*esposizioni prolungate*

(basse dosi ripetute nel tempo, non tossiche singolarmente → effetti cumulativi)

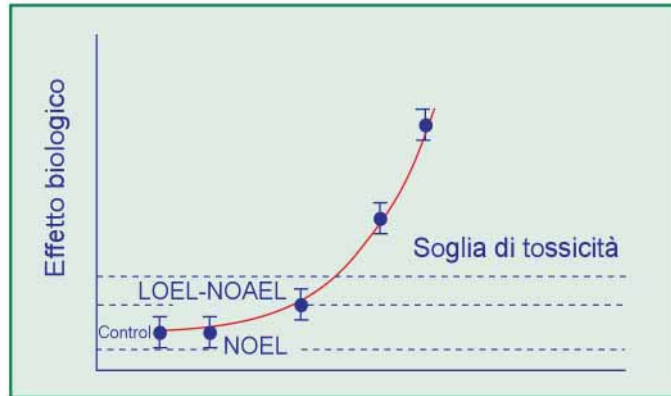
Dalla conoscenza della quantità di sostanza necessaria a produrre un effetto, si può capire se la presenza di una sostanza nell'ambiente o l'ingestione di una sostanza presente come residuo in un alimento, può essere sufficiente a causare un effetto tossico e fornire indicazioni sulle misure da intraprendere per proteggere la salute (Figura 3).



**Figura 3** - Curva dose-risposta per sostanze non cancerogene (le curve dose-risposta variano con l'effetto tossico osservato così come le dosi soglia)

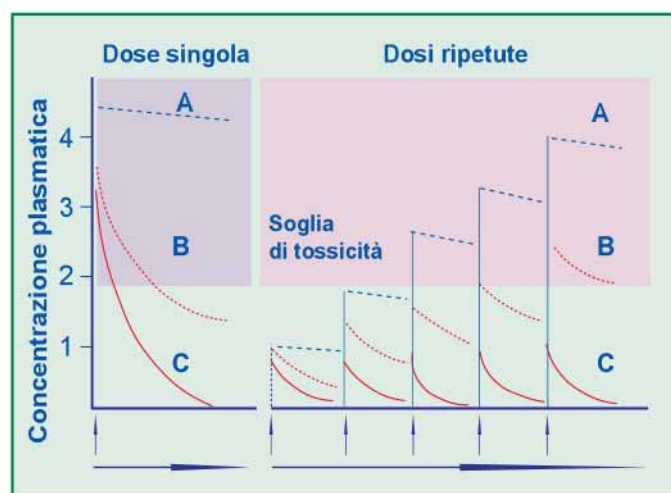
La concentrazione alla quale l'effetto si verifica viene chiamata "livello efficace", che si raggiunge sia attraverso una singola esposizione, se è sufficientemente elevata, sia attraverso esposizioni prolungate a basse dosi che singolarmente non sono tossiche (quindi se vengono assunte una sola volta non hanno alcun effetto), ma i cui effetti sono invece cumulativi, cioè si sommano l'uno con l'altro. Di conseguenza, quella stessa piccola dose per tempi lunghi può provocare un accumulo di danno e un conseguente effetto tossico rilevante.

Tra i vari possibili effetti, il tossicologo cerca di identificare qual è l'effetto critico. Esso viene considerato tale o perché è presente alle dosi più basse (in altre parole, è il primo che si verifica) o perché ha una maggiore rilevanza dal punto di vista tossicologico. Confrontiamo, ad esempio, la comparsa di "erezione del pelo" a dosi inferiori rispetto a necrosi epatica: dal punto di vista tossicologico è molto più rilevante l'effetto sul fegato, a meno che la piloerezione non sia da considerarsi come una spia (marcatore precoce) di un effetto più grave, che si manifesta a dosi più elevate. Si tratta quindi di interpretare i dati, utilizzando le proprie conoscenze e non di applicare regole formali e considerare i numeri in modo acritico e automatico. L'importanza di identificare l'effetto critico è data dal fatto che la sua prevenzione determina automaticamente la prevenzione di tutti gli altri effetti possibili. Ovviamente, oltre ad identificare l'effetto critico è importante capire a quale dose esso si manifesti e capire quale sia la dose più alta che può considerarsi sicura poiché non produce effetti. Questa dose è comunemente indicata come NOEL (*No Observed Effect Level*), mentre la dose più bassa in cui l'effetto è presente viene chiamata LOEL (*Low Observed Effect Level*): si tratta di parametri importanti per la valutazione del rischio (Figura 4).



**Figura 4** - Curva di effetto di una sostanza in funzione della dose di esposizione e identificazione di NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*), NOEL (*No Observed Effect Level*) e LOEL (*Low Observed Effect Level*)

La concentrazione di una sostanza nell'organismo dipende anche dalla durata e dalla frequenza dell'esposizione. Con dosi ripetute si può ottenere un accumulo, se la frequenza di somministrazione (per un farmaco) o di esposizione (per un contaminante ambientale) è maggiore della velocità di eliminazione. La concentrazione dello xenobiotico può aumentare fino a superare quella che viene riconosciuta come la soglia di tossicità. Ecco perché è importante conoscere per ogni sostanza i dati tossicocinetici e capire quanta ne viene assorbita e quanta eliminata e da questo dato ricavare, ad esempio, nel caso di un farmaco, la dose che deve essere somministrata e quale è la distanza tra una dose e l'altra. La posologia di un farmaco deriva esattamente da questi dati: si fa in modo che la concentrazione del farmaco in circolo sia sufficiente ad esplicare l'effetto farmacologico per un dato tempo, senza che ci sia l'accumulo del farmaco nell'organismo. In caso di somministrazione di un farmaco o di un contaminante, la misura della sua concentrazione plasmatica in funzione del tempo dà luogo a curve, come quelle mostrate nella Figura 5. Il farmaco C



**Figura 5** - Andamento nel tempo della concentrazione plasmatica delle sostanze dopo trattamento singolo o ripetuto: (A) eliminazione lenta; (B) eliminazione intermedia; (C) eliminazione veloce



viene eliminato piuttosto velocemente; il farmaco B viene eliminato molto più lentamente e il farmaco A viene eliminato molto lentamente e persiste nel sangue per tempi lunghi. Nell'intervallo di assunzione tra una dose e la successiva, la concentrazione del farmaco C si azzerava prima della seconda dose, alla quale si ripete la curva che ha caratterizzato la prima somministrazione. Il farmaco B non è ancora scomparso nel sangue quando si assume la seconda dose, che quindi si somma al residuo e così per le altre dosi, fino a che viene raggiunta la soglia di tossicità, con comparsa di effetti collaterali.

Con il farmaco A gli effetti collaterali potrebbero comparire già alla seconda dose. È per questo che quando si prescrive "assumere non prima di..." è assolutamente necessario seguire l'indicazione. Ovviamente questo è molto facile da capire con un farmaco, molto meno intuitivo con una sostanza tossica, ma i meccanismi sono esattamente gli stessi perché il nostro organismo non distingue tra farmaco e tossico: le sostanze chimiche non vengono riconosciute sulla base della natura benefica o meno dei loro effetti, tantomeno se sono naturali o di sintesi.

È possibile che il danno non venga riparato in maniera sufficientemente veloce rispetto all'esposizione. Può pertanto succedere che, anche in assenza di accumulo del tossico, se è stato prodotto un danno non reversibile o la cui reversibilità è più lenta rispetto alla somministrazione della dose successiva, si ha quello che viene chiamato l'accumulo del danno. Ad esempio, la somministrazione di etanolo produce a livello epatico quella che viene chiamata steatosi\*, o accumulo di lipidi. Il tempo che è necessario perché questi lipidi vengano degradati ed eliminati è generalmente molto più lungo di quello necessario per eliminare l'etanolo. Pertanto, in caso di consumo eccessivo e prolungato di alcol, i lipidi si accumulano e alla fine si instaura un quadro tipico di cirrosi epatica. L'etanolo non si accumula, perché viene eliminato in tempi piuttosto brevi e, conseguentemente, non può esserci l'accumulo del tossico.

### *La valutazione dell'esposizione*

La terza fase riguarda la *valutazione dell'esposizione*. Si tratta di rispondere alla domanda: a quale concentrazione della sostanza in esame è esposta la popolazione? Si può valutare la dose di esposizione esterna all'organismo, quando si determina o si stima per calcolo la concentrazione di una data sostanza presente in una matrice ambientale e/o alimentare. Esempi tipici sono contaminanti ambientali, additivi, coloranti e aromatizzanti ma anche tossine naturali (micotossine\* e ocratossine\*) assunti attraverso la dieta, le esposizioni di tipo professionale, i prodotti di uso voluttuario come alcol, fumo di tabacco e cosmetici. L'identificazione dell'agente tossico è molto importante perché in alcuni casi non è la sostanza come tale ad essere dannosa, ma sono i prodotti di degradazione ambientale ad essere più pericolosi della sostanza.

Uno degli approcci più recenti della tossicologia è quello di considerare la dose di esposizione interna come misura attendibile di esposizione: infatti la dose esterna non è così importante se la sostanza non viene assorbita. Quando possibile, oggi si tende a misurare la dose che viene chiamata dose al bersaglio: si tratta di capire a quale concentrazione la sostanza, una volta che è stata assorbita, è presente nei vari distretti corporei e principalmente nel sito dove deve agire. In questo caso si risponde alle domande: qual è il destino della sostanza una volta che è entrata nell'organismo? Qual è la concentrazione interna della specie chimica (composto



## Valutazione del rischio tossicologico

Terza fase

### Valutazione dell'esposizione

#### Esterna

A quale concentrazione una data sostanza è presente nei vari comparti ambientali/dieta/aria/ambienti lavorativi/in prodotti a uso voluttuario?

Attraverso quali vie l'uomo è esposto? (Inalatoria, cutanea, orale, ecc.)

In quali situazioni? (Lavoro, ambiente, stili di vita, alimentazione, ecc.)

A quale sostanza si è esposti?

(Ad esempio, possono essere rilevanti i prodotti di degradazione ambientale)

#### Interna

A quale concentrazione la sostanza è presente nei vari distretti corporei e nel sito di azione?

Qual è il destino della sostanza all'interno dell'organismo?

Qual è la concentrazione della "specie chimica" tossicologicamente rilevante?



ADME (assorbimento, distribuzione, metabolismo ed escrezione)

Biomarcatori di esposizione

Studi di monitoraggio e misure del *body-burden*

parentale\* X o un suo metabolita X\*) tossicologicamente rilevante. Risulta quindi ancora una volta fondamentale capire il processo che normalmente viene chiamato ADME per una corretta interpretazione dei dati tossicologici.

Questo approccio dà anche la possibilità di identificare dei biomarcatori\* di esposizione. Quando si conosce il destino all'interno dell'organismo si può andare a vedere quale campione biologico è più rilevante per capire se c'è stata esposizione o meno. Un esempio classico è quello dei capelli nei confronti dei metalli. Appurato che i metalli si accumulano in certi distretti tra cui i capelli è facile sapere, con metodi scarsamente invasivi (è sufficiente una piccola quantità di capelli), se una persona è stata o meno esposta a metalli pesanti, aprendo la strada alla conduzione di studi di biomonitoraggio. Un altro esempio che ha interessato molti lavoratori è la raccolta delle urine per verificare l'eventuale presenza di sostanze escrete (come tali o sottoforma di metaboliti) che rappresentano la "spia" di una esposizione avvenuta nell'arco delle ultime 24 ore. Ovviamente, la raccolta delle urine deve essere fatta conoscendo la cinetica della sostanza perché, con tempi di raccolta inadeguati, si rischia di avere risultati inattendibili. Misurando la presenza di un contaminante nei fluidi biologici o in tessuti (ad esempio, il tessuto adiposo) si può stimare quello che viene chiamato *body-burden*, cioè il carico della sostanza nell'organismo. Questo è particolarmente rilevante per sostanze persistenti che hanno una velocità di eliminazione molto lenta (diossine, PCB, DDT): il monitoraggio biologico rileva anche esposizioni a queste sostanze avvenute 10-15 anni prima della misura. Si tratta di sostanze che sono persistenti nel nostro organismo e nell'ambiente, sostanze vietate ormai da anni, a livello italiano ed europeo (pesticidi come il

lindano o l'esaclorobenzene o il DDT) e che ancora persistono nell'ambiente; conseguentemente, attraverso un'analisi del sangue si potrebbe notare come una qualsiasi persona mantenga nell'organismo un minimo di PCB e a volte di DDT a cui è stata esposta in passato, ma anche recentemente, data la persistenza ambientale delle sostanze considerate.

### La caratterizzazione del rischio

La quarta fase è la *caratterizzazione del rischio* e integra tutte le informazioni raccolte nelle fasi precedenti. Sulla base dei dati disponibili si effettua una previsione sulla frequenza e la gravità degli effetti, evidenziati a livello sperimentale e/o epidemiologico, che possono verificarsi in una popolazione esposta a un livello noto della sostanza in esame. Le informazioni ottenute dalla relazione dose-risposta vengono combinate con le informazioni sull'entità di esposizione valutata nella terza fase per produrre una stima della probabilità di osservare l'effetto tossico.

Spesso si calcola quello che viene chiamato il margine di sicurezza o MOS, che non è altro che il rapporto tra una dose definita "senza effetto" (NOEL) e l'esposizione. Se il margine di sicurezza è sufficientemente ampio, è possibile predire che il rischio di avere un evento nocivo sulla salute dell'uomo o sull'ambiente è basso. Se, invece, il rapporto è molto ristretto ovviamente non sarà sufficiente per proteggere sia l'uomo sia l'ambiente e allora dovranno essere pensate - e questo fa parte della gestione del rischio - e attuate delle misure che permettano la riduzione dell'esposizione.

#### Valutazione del rischio tossicologico

Quarta fase

##### Caratterizzazione del rischio

Che previsione può essere fatta in merito alla frequenza e alla severità degli effetti nella popolazione esposta?



Le informazioni sulla relazione dose-risposta sono combinate con le informazioni sull'entità dell'esposizione per produrre una stima della probabilità di osservare l'effetto tossico nella popolazione

Quali sono i fattori che rendono non facile la previsione tipica della caratterizzazione del rischio? Un peso importante lo riveste la variabilità dell'esposizione: all'interno di una popolazione la durata, la dose e la via di esposizione possono essere diverse ed è necessario capire qual è la popolazione più esposta. Ad esempio, nell'ambiente domestico sono presenti composti organici volatili che vengono sia dall'ambiente esterno quando si aprono le finestre, ma anche dal rilascio dei mobili, degli abiti, delle strutture murarie, dall'uso dei detergenti per la pulizia. In questo caso, l'esposizione di un adulto può essere molto diversa da quella di un bambino, perché le sostanze organiche volatili più pesanti, che in genere sono anche quelle più nocive, vanno a depositarsi in basso. I bambini hanno abitudini e comportamenti per i quali sono maggiormente esposti: generalmente giocano per terra, stanno molto tempo più in basso rispetto a noi,

mettono frequentemente in bocca oggetti e mani; inoltre, fino a sei anni, hanno una velocità di ventilazione doppia rispetto agli adulti perché hanno un maggior bisogno di ossigeno, legato alla notevole attività motoria che svolgono. Perciò, rispetto all'inalazione di sostanze, la popolazione più esposta in ambienti chiusi è rappresentata dai piccoli piuttosto che dagli adulti.

Ma esiste anche la possibilità di avere popolazioni più suscettibili indipendentemente dai livelli di esposizione. Gli stati patologici, lo stato di gravidanza, fattori genetici ma anche socio-ambientali determinano differenze di suscettibilità agli effetti tossici in gruppi di popolazione. Se attraverso un'analisi tossicologica e la valutazione del rischio si identifica quale popolazione è più esposta e quale è più suscettibile e si riesce, tramite opportune misure di prevenzione, a proteggere quella popolazione, tutti gli altri individui saranno automaticamente protetti.

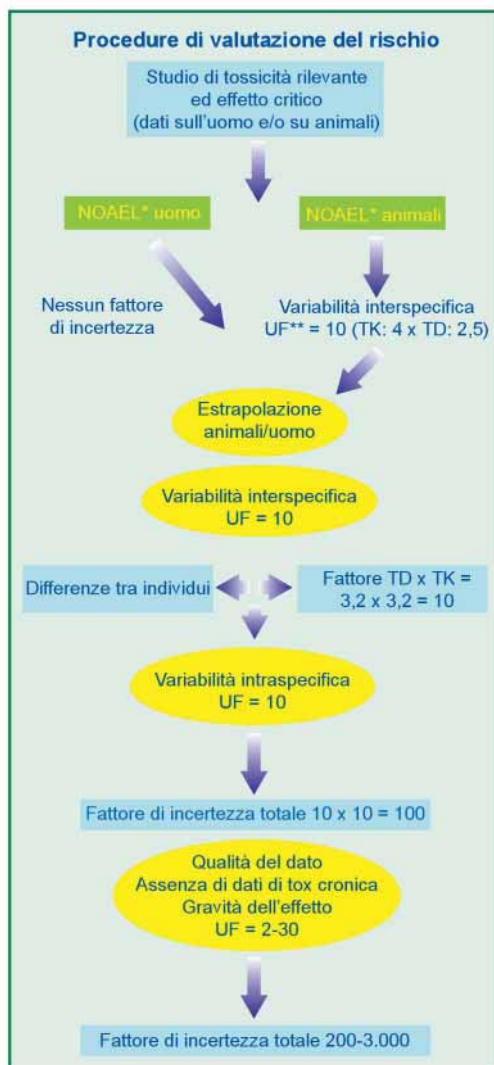
Sussistono ovviamente anche dei fattori di incertezza in questi processi di valutazione: si può verificare un problema di incertezza sul dato sperimentale, perché gli studi che sono disponibili non sono di buona qualità. Una seconda fonte di incertezza è data dall'adeguatezza del modello sperimentale: l'animale o il modello sperimentale utilizzato (che può essere anche una linea cellulare) dovrebbe essere il più possibile rilevante rispetto alla popolazione da proteggere: la sperimentazione su una specie animale che non ha caratteristiche simili all'uomo, diminuisce la possibilità di vedere degli effetti. Per esempio, ci sono alcuni animali che non hanno il riflesso del vomito: se devono essere valutati effetti emetici, è ovvio che quella specie animale non è rilevante.

Un altro problema è legato alla durata dello studio. Se sono disponibili solo studi con una durata massima di un mese e deve essere valutato un additivo alimentare, per il quale si prevede la possibilità di assunzione per tutta la vita, è ovvio che l'incertezza è molto elevata se si deve calcolare la dose giornaliera accettabile.

Un problema ulteriore è l'estrapolazione all'uomo dei dati ottenuti su animali. Le differenze tra i modelli animali utilizzati nei test tossicologici e l'uomo sono principalmente legate a un diverso comportamento tossicocinetico (soprattutto nella parte metabolica), mentre la farmacodinamica di un antibiotico è molto simile nell'uomo e negli animali. Le differenze sono generalmente dovute al fatto che gli enzimi del metabolismo hanno una diversa espressione genica e spesso hanno affinità e attività diverse nelle diverse specie.

Normalmente nei test sperimentali tossicologici vengono utilizzate alte dosi di sostanza rispetto alle basse dosi a cui normalmente l'uomo è esposto. Questo pone un ulteriore problema di estrapolazione perché l'andamento della curva dose-risposta non è necessariamente lineare. E allora perché usarle e non testare sperimentalmente basse dosi? Il problema riguarda la significatività statistica che si raggiunge con i grandi numeri. Se un effetto a una certa dose si verifica su un individuo su mille, per ottenere a quella dose un effetto statisticamente significativo si dovrebbe usare una quantità enorme di animali e questo non è corretto né dal punto di vista etico, né tanto meno fattibile da un punto di vista organizzativo ed economico. Quindi si alza la dose e si diminuisce il numero degli animali. Aumentando di cento volte la dose si avrà bisogno di un numero di animali molto minore per vedere se l'effetto viene prodotto o meno, ma questo poi genererà i suddetti problemi di estrapolazione.

L'incertezza diminuisce avendo a disposizione altri dati, qualora il tossicologo ritenga che con quelli di cui dispone non può fare una corretta valutazione, oppu-



**Figura 6** - Schema di applicazione delle procedure di valutazione del rischio  
 (\*) NOAEL = *No Observed (Adverse) Effect Level*  
 (\*\*) UF = *Uncertainty Factor* (fattore di incertezza)  
 TD = tossicodinamica  
 TK = tossicocinetica

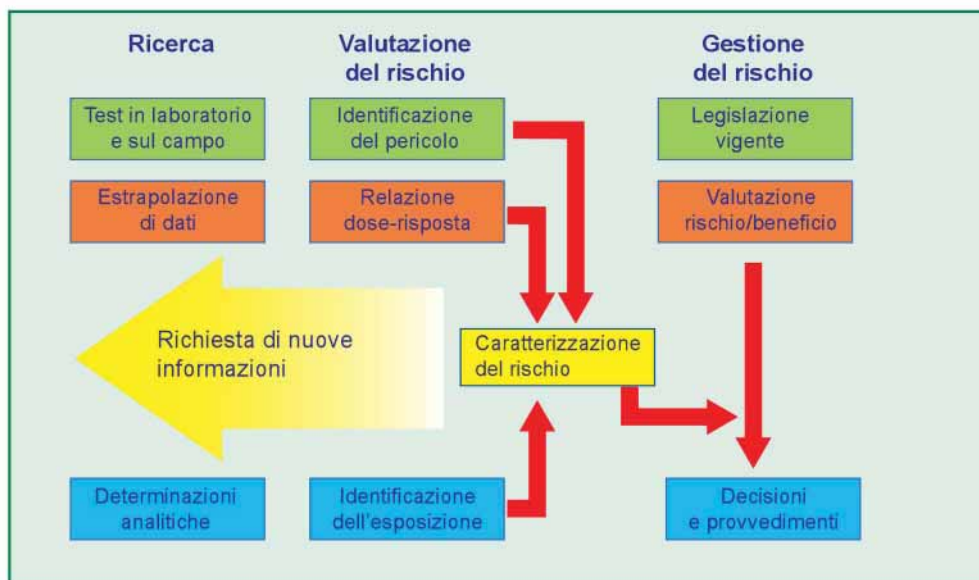
re introducendo i cosiddetti “fattori di sicurezza”, che sono anche più giustamente chiamati “fattori di incertezza” (Figura 6).

Dagli studi tossicologici normalmente emerge l'identificazione di una dose senza effetto. A quella dose senza effetto (NOEL), si applica un fattore di incertezza, che normalmente è pari a 100 (10x10): 10 per l'estrapolazione dall'animale all'uomo (si presuppone che, di base, l'uomo sia dieci volte più sensibile), e 10 per tener conto della variabilità interindividuale all'interno della popolazione umana. Mentre i roditori utilizzati normalmente in tossicologia sono geneticamente simili uno all'altro (in questo modo il risultato sperimentale non è intaccato dalla variabilità di un singolo individuo che può essere particolarmente sensibile), gli uomini sono uno diverso dall'altro.

Nel caso di maggiore incertezza dovuta al dato sperimentale o alla specie rilevante, o se l'effetto è particolarmente grave e si ritiene necessario aumentare il livello di protezione, si aggiungono ulteriori fattori di incertezza, per cui a volte il NOEL è diviso per un fattore mille o anche diecimila. Di conseguenza, rispetto alla dose vista sull'animale, quella che viene considerata come la dose senza effetto sull'uomo è generalmente inferiore di cento e più volte.

Quindi attraverso la ricerca (test di laboratorio e sul campo) si ottengono quei dati che portano all'identificazione

del pericolo, alla relazione dose-risposta e alla determinazione dell'esposizione, dopodiché si può condurre la valutazione e la caratterizzazione del rischio, seguita, se necessario, dalla fase di gestione del rischio: si confrontano i dati che si sono ottenuti con le necessità correnti, quindi si fa la valutazione rischio-beneficio (Figura 7). Se la valutazione del rischio ci dice che il rischio è troppo alto, è necessario prendere dei provvedimenti, in assenza dei quali la sostanza non può rimanere sul mercato.



**Figura 7** - Percorso di valutazione del rischio

Questo percorso di valutazione viene generalmente condotto per singola sostanza, senza tenere conto del fatto che le condizioni di esposizione reale prevedono una esposizione multipla a un numero imprecisato di sostanze. Durante la fase di sviluppo di nuovi farmaci si comincia ad esplorare la possibilità che si verifichino delle interazioni; tuttavia, non si dispone di procedure accettate internazionalmente per verificare queste opportunità e valutare il rischio da miscele o da esposizioni multiple e si possono quindi fare solo delle previsioni basate sulla conoscenza dei meccanismi di azione e della tossicocinetica.

## TEST DI TOSSICITÀ E DI MUTAGENICITÀ

Chiara Micolonghi

*Dipartimento di Biologia, Università degli Studi "Roma Tre", Roma*

L'esercitazione consente agli studenti di osservare e valutare eventuali effetti tossici o mutagenici di una sostanza chimica sulle cellule.

Per l'esecuzione del test è stato scelto il lievito\* *Saccharomyces cerevisiae*\*. Si tratta di un organismo facilmente reperibile (è il comune lievito di birra che si usa in cucina), economico e semplice da coltivare. Inoltre, essendo un organismo eucariote, è utilizzabile come modello con riferimento alle cellule degli organismi superiori.

È opportuno tuttavia tenere presenti alcuni limiti dell'utilizzo del lievito: in primo luogo, esso possiede una parete cellulare estremamente resistente e risulta quindi meno facilmente permeabile rispetto, ad esempio, alle cellule umane. Inoltre, possiede specifici meccanismi di riparazione del DNA, differenti da quelli delle cellule umane. Infine, nelle cellule di lievito sono assenti molte vie metaboliche che nei mammiferi sono responsabili della conversione di sostanze in agenti tossici o mutagenici per l'organismo (si pensi alle reazioni enzimatiche che avvengono a livello del fegato).

L'esecuzione del test comporta la semina delle cellule di lievito su un terreno di coltura\* solido dove la tossicità di una sostanza è facilmente rilevabile.

Predisposto il terreno colturale in una piastra di Petri\*, si distribuisce sulla superficie una sospensione di cellule di lievito e si deposita al centro della piastra un dischetto imbevuto con la sostanza da saggiare. In questo modo nel terreno si determina un gradiente di concentrazione, dal centro al bordo della piastra; se la sostanza è tossica, le cellule non cresceranno nelle vicinanze del dischetto e daranno origine a colonie a partire dalla zona dove la concentrazione della sostanza è sufficientemente bassa, "permissiva".

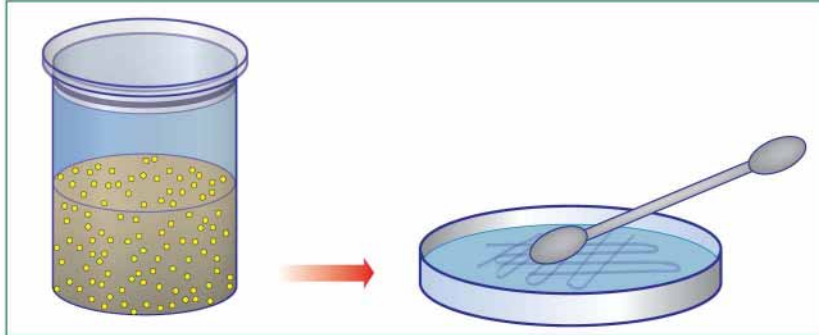
Si è scelto di saggiare l'effetto della formaldeide sulle cellule di lievito.

Se si utilizza il lievito per pizza, disponibile in commercio sotto forma di panetti, è consigliabile lasciar "riprendere" le cellule prima di iniziare l'esperimento. Le cellule che compongono il panetto, infatti, mediante l'adozione di particolari accorgimenti, sono state "abitate" a praticare un metabolismo quasi unicamente fermentativo, a scapito della respirazione. Per ristabilire il metabolismo normale nel quale coesistono respirazione e fermentazione, è sufficiente sciogliere in mezzo bicchiere di acqua una porzione del panetto delle dimensioni di un pisello e seminare una goccia della sospensione ottenuta su una piastra di coltura, con un *cotton fioc* (Figura 1).

Se la piastra è mantenuta 24 ore alla temperatura di 30 °C (o 48 ore a temperatura ambiente), le cellule hanno modo di riattivare il normale metabolismo e di duplicarsi, dando origine a colonie.

Alcune delle colonie così ottenute, composte da cellule metabolicamente attive, sono prelevate e stemperate in un bicchiere d'acqua con l'aiuto di uno stuzzicadenti. Si effettuano quindi opportune diluizioni seriali della sospensione con l'aiuto





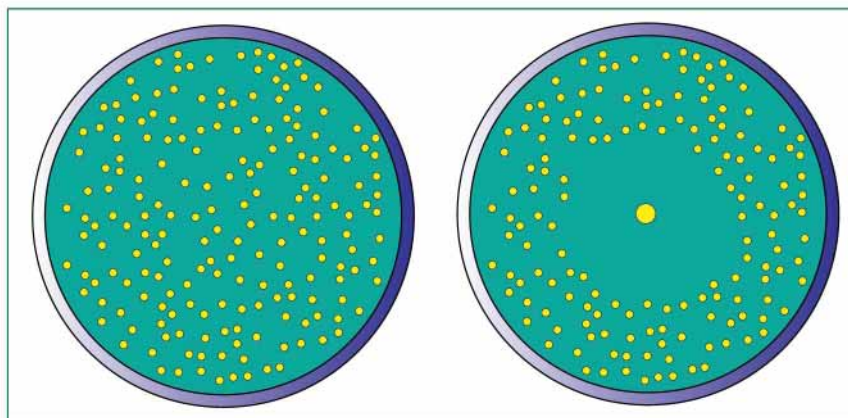
**Figura 1** - Le cellule possono essere seminate in modo abbastanza omogeneo su piastra imbevendo il tampone di un *cotton fioc* nella sospensione e passando più volte il *cotton fioc* sulla piastra con movimenti a zigzag

di una siringa da 10 ml, in modo da seminare su piastra con un cotton fioc qualche centinaio di cellule. Al centro della piastra è depositato, con pinzette, un dischetto di carta assorbente imbevuto di formaldeide. È bene disporre anche di una piastra di controllo, su cui non si depono il dischetto imbevuto di formaldeide.

Le piastre sono lasciate per 24 ore a 30 °C, oppure per 48 ore a temperatura ambiente.

Si confronta la disposizione delle colonie nelle due piastre. Mentre sulla piastra di controllo si osserveranno colonie distribuite in modo abbastanza omogeneo su tutta la superficie, sulla piastra contenente il dischetto di formaldeide non saranno presenti colonie intorno al dischetto. Questo indica che la formaldeide ha impedito la riproduzione delle cellule: è quindi tossica per le cellule di lievito.

In generale, il diametro dell'alone di inibizione della crescita è tanto maggiore quanto più è alta la tossicità di una sostanza per le cellule (Figura 2).



**Figura 2** - A sinistra, piastra di controllo su cui non è stato depositato il dischetto imbevuto di formaldeide. A destra, piastra con al centro un dischetto imbevuto di formaldeide. È presente un gradiente di concentrazione della sostanza dal centro ai bordi. Le cellule si riproducono formando colonie solamente a partire da una certa distanza dal dischetto: a tale distanza la concentrazione della formaldeide è sufficientemente bassa, tale da non risultare tossica



Rilevata la tossicità della formaldeide, per saggiarne l'eventuale mutagenicità è utilizzato il carattere "capacità di respirare", che dipende dalla presenza dei mitocondri e dalla inalterata funzionalità dei genomi mitocondriale e nucleare. Sono prese in considerazione mutazioni\* che comportano la perdita della capacità di respirare. Per la rilevazione di tali mutanti occorre utilizzare un indicatore disponibile in provette, addizionato a una piccola quantità di terreno colturale.

Si fa fondere il contenuto di due provette e, quando la temperatura scende intorno a 50 °C, lo si stratifica sulle due piastre sulle quali è stato eseguito il test di tossicità. Dopo la solidificazione del "top agar", le piastre sono incubate per 40 minuti a 30 °C (o 60 minuti a temperatura ambiente).

Il trifeniltetrazolio, ovvero l'indicatore contenuto nel terreno, assume colorazioni diverse a seconda del potenziale ossidoriduttivo: quando tale potenziale è alto (cioè quando la cellula respira, oltre a fermentare) assume una colorazione rossa, mentre quando tale potenziale è più basso (cioè quando la cellula ha un metabolismo esclusivamente fermentativo) non si colora.

Pertanto, se la sostanza saggiata non ha effetti mutagenici, tutte le colonie appariranno rosse.

La presenza di qualche colonia\* bianca nella piastra di controllo è attribuibile a mutazioni spontanee. La presenza di colonie bianche sulla piastra contenente la formaldeide (in numero superiore rispetto a quello rilevato nella piastra di controllo) indicherà che sono state indotte mutazioni, la frequenza delle medesime colonie consentirà di valutare la potenza mutagenica della sostanza, e la distanza delle colonie mutate dal dischetto fornirà indicazioni sulla concentrazione alla quale si esplica l'azione mutagenica.

## Materiali

- acqua distillata sterile
- alcol etilico
- beuta sterile (se non disponibile, un bicchiere precedentemente pulito con alcol)
- cappa biologica (se non disponibile, si consiglia di lavorare vicino ad una fiamma)
- dischetti di carta assorbente del diametro di 0,5 cm circa
- pipette o siringa graduata
- panetto di "lievito fresco per pizza, pane, dolci" (*Saccharomyces cerevisiae*)
- pinzette
- 2 piastre Petri contenenti circa 20 ml ciascuna di terreno di coltura per lievito (estratto di lievito 10 g/l, peptone 10 g/l, glucosio 10 g/l, agar 15 g/l)
- 2 provette da 10 ml contenenti 5 ml di terreno indicatore (glucosio 20 g/l, agar 15 g/l e tri-feniltetrazolio 1,5 g/l)
- sostanza da saggiare
- spatola per piastramenti (se non disponibile, *cotton fioc*, come indicato nel testo)

Ai fini di una efficace fruizione dell'esercitazione, è opportuno accertarsi che gli studenti abbiano messo a fuoco nozioni e concetti fondamentali:

- la differenza tra cellule che non respirano in quanto "abitate" a fermentare, ovvero assoggettate a cambiamenti non genetici, a livello di regolazione metabolica, indotti mediante pratiche industriali (coltivazione in assenza di ossigeno), e cellule incapaci di respirare a causa di mutazioni geniche o genomiche;

- l'esigenza di disporre di standard o "controlli" sperimentali. Nel caso del test proposto, la piastra di controllo, fornendo informazioni relative al comportamento delle cellule in condizioni di crescita "normali", permette di capire se e come la sostanza in esame alteri tali condizioni;
- l'utilità relativa all'adozione di condizioni di sterilità. Se si lavora sotto cappa o quantomeno in prossimità di una fiamma si evita di inquinare le colture con contaminanti ambientali, inficiando i risultati del test;
- la diluizione della sospensione cellulare prima di procedere al piastramento. Un eccessivo numero di cellule determinerebbe una crescita confluyente delle colonie, ovvero un tappeto cellulare, in cui non sarebbe possibile distinguere singoli "individui". All'opposto il piastramento di un numero di colonie troppo basso potrebbe impedire di rilevare mutanti in ragione della frequenza di mutazione che raramente supera le unità percentuali. Prove preliminari – quali il preventivo piastramento di campioni derivati da diverse diluizioni della sospensione che si intende utilizzare – consentono di effettuare il test disponendo del numero ottimale di cellule.

## RELAZIONI TRA LA STRUTTURA CHIMICA E L'ATTIVITÀ TOSSICA DI MUTAGENI E CANCEROGENI

Romualdo Benigni

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Nell'Unione Europea (UE) lo strumento principale per la valutazione del rischio da sostanze chimiche è rappresentato a tutt'oggi dagli esperimenti di tossicologia. Per le nuove sostanze cosiddette di uso industriale (né farmaci né additivi alimentari) che vengono immesse sul mercato, viene richiesta una documentazione tossicologica, la cui entità varia a secondo del quantitativo delle stesse. In questi anni, tuttavia, si sta aprendo l'opportunità di ricorrere in modo più ampio che in passato a metodi alternativi: metodi che sono prima di tutto alternativi alle sperimentazioni sugli animali, ma anche alternativi in modo più generale alla sperimentazione. Si tratta di metodi teorici, come per esempio quelli che studiano la relazione tra la struttura delle sostanze chimiche e la loro attività biologica. In Europa sta infatti per essere messa in atto una nuova regolamentazione dei prodotti chimici che si chiamerà REACH (*Registration, Evaluation and Authorization of CHemicals*), che prevede molte innovazioni rispetto alla legislazione vigente come è spiegato nella relazione di Paola Di Prospero Fanghella. In particolare, non ci sarà più distinzione tra le sostanze chimiche nuove, quelle che verranno importate o prodotte in Europa e poi immesse sul mercato, e le cosiddette sostanze esistenti, che sono quelle che erano già presenti sul mercato prima del 1982 (data in cui è entrata in vigore l'attuale legislazione) e per le quali non è stata richiesta una documentazione tossicologica. Mentre nella legislazione precedente, le sostanze "esistenti" (circa 101.000) erano in qualche modo "sanate" (a eccezione di alcune sostanze ad alto volume di produzione per le quali sono stati fatti studi *ad hoc*), con il REACH sarà necessario che le industrie documentino dal punto di vista tossicologico una buona parte di esse (circa 30.000, di uso più vasto). Questo nell'arco di circa 10 anni. Trentamila sostanze da provare nell'arco di una decina di anni significa un numero enorme di nuovi esperimenti tossicologici che sarà difficile eseguire: quindi si crea lo spazio per l'accettazione di metodi alternativi.

Contemporaneamente a questo processo che avviene all'interno dell'UE, si sviluppa un processo parallelo a livello internazionale, soprattutto dell'OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development - Organizzazione per la Cooperazione Economica e lo Sviluppo) che si occupa essenzialmente di armonizzare la legislazione tra le diverse aree del mondo. È, nei fatti, un colloquio tra l'UE, gli Stati Uniti, il Giappone e il Canada. Anche a questo livello c'è un grande impulso verso l'uso dei modelli struttura-attività, oltre a molti altri approcci, sempre al fine di diminuire la dipendenza dalle sperimentazioni tossicologiche.

Durante il lungo periodo di progresso della chimica (dall'inizio Ottocento) i concetti della chimica sono stati usati ampiamente per capire i meccanismi delle interazioni tra le sostanze chimiche e gli esseri viventi e per addomesticare le sostanze chimiche, cioè per produrre sostanze meno pericolose o non pericolose. Due lavori

molto utili a questo riguardo, di prospettiva generale, sono uno di Corwin Hansch (1996), che è stato il pioniere della scienza quantitativa delle relazioni struttura-attività, e l'altro di Erich Ariens (1984) (di carattere più tossicologico).

Un uso molto diffuso dei concetti derivati dalla chimica è qualitativo. Un esempio di tale procedere qualitativo è la razionalizzazione del meccanismo attraverso cui gli azo-coloranti possono indurre forme tumorali. La chimica insegna che l'azo-gruppo (due azoti uniti da un doppio legame, tra due anelli aromatici) può essere rotto da sistemi di metabolismo riduttivi delle cellule, dando luogo ad ammine\* aromatiche, molte delle quali sono cancerogene. Nello stesso tempo, il ragionamento qualitativo basato sulla chimica ha fornito anche la soluzione per poter utilizzare gli azo-coloranti nell'industria alimentare. Infatti, aggiungendo alla molecola, in fase di sintesi, gruppi acidi sulfonici fortemente idrofili, i prodotti di degradazione dell'azo-gruppo saranno ammine aromatiche idrofile, che non vengono assorbite dai tessuti oppure vengono eliminate molto rapidamente. La chimica quindi spiega che l'azo-colorante con gruppi acidi sulfonici non è cancerogeno e permette di trovare dei rimedi al problema.

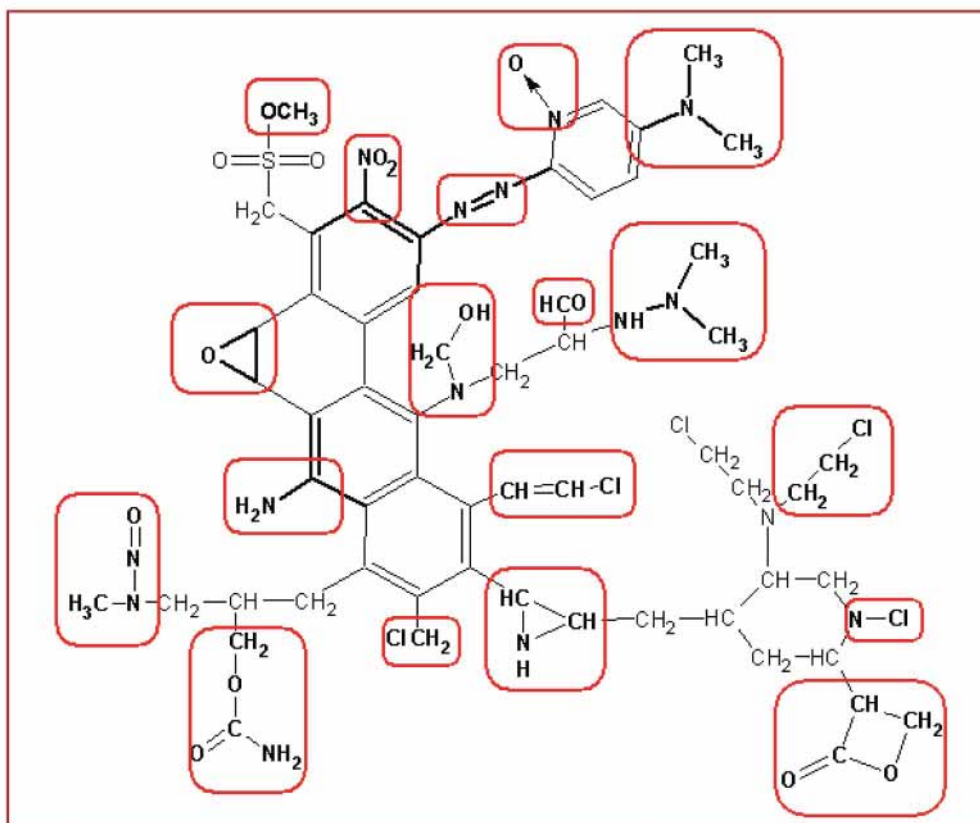
Questo uso qualitativo dei concetti chimici ha fornito col tempo una serie di altri contributi importanti. Il più notevole è il riconoscimento dei cosiddetti *structural alerts*, o allerte strutturali nelle molecole: gruppi funzionali che sono reattivi nei riguardi del DNA o come tali, o dopo trasformazione metabolica da parte delle cellule. In altri termini, o questi composti sono naturalmente elettrofili\* e quindi si attaccano a molecole ricche di elettroni come il DNA, oppure vengono trasformati dal metabolismo\* in elettrofili. Questo gruppo di cancerogeni chimici è chiamata classe dei cancerogeni genotossici, che appunto attacca il DNA, provoca danni al materiale genetico (mutazioni\*) e quindi ne deriva de-regolazione e cancro.

Esiste un altro gruppo di cancerogeni, cosiddetti non genotossici, per i quali il passaggio attraverso cui diventano cancerogeni non è una mutazione (e il responsabile non è la loro elettrofilicità). Le classi sono molte, ognuna ha un suo meccanismo di azione, e non c'è una teoria unificante come quella dell'attacco elettrofilo al DNA. In questo campo il progresso nel riconoscimento è stato anche più lento, anche per via della mancanza di una teoria unificante.

La Figura 1 è un adattamento di una rappresentazione pittorica originariamente sviluppata da John Ashby, un ricercatore che negli anni '70 e '80 ha molto contribuito allo sviluppo della mutagenesi\* ambientale e al riconoscimento e all'elencazione delle allerte strutturali. Ashby si è divertito a disegnare una specie di ipotetico super-cancerogeno, in cui ha raccolto molte allerte strutturali. Forse questa molecola, se sintetizzata, non sarebbe mutagena perché un po' troppo grande, tuttavia è di una notevole ricchezza informativa e potenza iconografica.

Ognuna di queste allerte strutturali corrisponde a un meccanismo di azione e a una ben precisa classe chimica. Ovviamente, la reattività e la pericolosità biologica di ogni gruppo reattivo dipende anche dal resto della molecola in cui è inserito. Tra gli effetti modulanti ci sono il peso molecolare\*, lo stato fisico, la solubilità\*, la reattività chimica di altri gruppi che possono essere nella molecola.

La conoscenza di queste allerte strutturali ha quindi dato un contributo notevole alla conoscenza in questo campo, perché ha permesso di identificare i gruppi chimici potenzialmente dannosi. Nello stesso tempo, ha contribuito a diminuire i rischi, in quanto ha indicato i gruppi chimici da evitare nella sintesi di nuove sostanze.



**Figura 1** - Rappresentazione di un ipotetico super-cancerogeno

Questo modo di descrivere le relazioni di struttura e attività in termini di liste di gruppi ha anche dei limiti. Come si fa a predire gli effetti di sottostrutture quando non sono state ancora osservate e non si trovano nelle liste? E quando ce n'è più di una? E quale sarà l'entità dell'effetto? Una generalizzazione potente dei ragionamenti qualitativi basati sulle allerte strutturali è presente nella scienza delle relazioni quantitative struttura-attività (QSAR). In questo tipo di approccio invece di liste di sottostrutture reattive ci si basa su poche proprietà chimico-fisiche di valore generale: l'idrofobicità\*, gli effetti elettronici e gli effetti sterici\*.

L'idrofobicità è fondamentale nell'interazione tra sostanze biologiche e cellule in quanto la stessa determina e regola l'assorbimento e il trasporto all'interno dei sistemi, ma anche l'interazione con i sistemi metabolici, con le proteine. Quindi, molto spesso è la proprietà principale nel determinare l'effetto biologico. Le caratteristiche elettroniche invece misurano la reattività chimica; gli effetti sterici, anch'essi importanti, descrivono grandezza e forma delle molecole.

Hansch (1996) ha avuto un ruolo particolare nel dare, insieme ad altri, un impulso a questo tipo di approccio, compiendo una operazione di grande portata dal punto di vista intellettuale e scientifico. È infatti riuscito a combinare approcci quantitativi di modellizzazione (già usati in chimica fisica organica) con lo studio delle azioni biologiche, creando in questo modo uno dei pochi campi dove la modellizzazione quantitativa è entrata con successo costante nella biologia.

La Tabella 1 mostra, come esempio, le relazioni quantitative struttura-attività per le ammine aromatiche. In essa sono mostrati due modelli (due equazioni): il primo si riferisce alla potenza mutagena nel batterio *Salmonella typhimurium*, il secondo si riferisce alla potenza cancerogena nei roditori. Sembrano complicati, in realtà si leggono in modo molto semplice: logTA98 è la potenza mutagena e dipende, in ordine di importanza, dall'idrofobicità (logP), dai fattori elettronici - che in questo caso sono i parametri HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) che si calcolano con metodi quanto-meccanici - e dai fattori sterici. Qui sono mostrati in ordine di importanza nell'effetto biologico. È interessante che anche nella seconda equazione si trovano prima gli effetti idrofobici, poi gli effetti elettronici e poi gli effetti sterici. Inoltre, fra gli effetti elettronici il più importante è HOMO, che è l'energia dell'orbitale molecolare occupato più alto, e ha a che vedere con la capacità delle sostanze di essere ossidate. Questo modello ha un riscontro nel fatto che si sa che la via metabolica principale delle ammine aromatiche è quella dell'ossidazione del gruppo - NH<sub>2</sub>. La teoria e la pratica in questo caso si sostengono l'una con l'altra.

**Tabella 1** - Relazioni quantitative struttura-attività (QSAR) di ammine aromatiche

**Modello QSAR per la potenza mutagena in *Salmonella typhimurium* TA98**

$$\log TA98 = 1,08 \log P + 1,28 \text{ HOMO} - 0,73 \text{ LUMO} + 1,46 \text{ IL} + 7,20$$

n = 88 r = 0,898 s = 0,860

**Modello QSAR per la potenza cancerogena in topi**

$$\text{BRM} = 0,88 \log P * I(\text{monoNH}_2) + 0,29 \log P * I(\text{diNH}_2) + 1,38 \text{ HOMO} - 1,28 \text{ LUMO} - 1,06$$

$$\Sigma \text{MR}_{2,6} - 1,10 \text{ MR}_3 - 0,20 \text{ ES(R)} + 0,75 I(\text{diNH}_2) + 11,16$$

n = 37 r = 0,907 r<sup>2</sup> = 0,823 s = 0,381 F = 16,3 P < 0,001

La potenza mutagena (log TA98) è espressa come log (revertanti/nanomoli). Alti valori di TA98 indicano alta potenza mutagena. HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) è l'energia dell'orbitale molecolare occupato più alto. LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) è l'energia dell'orbitale non occupato più basso. HOMO e LUMO misurano, in modi differenti, la reattività delle molecole. IL è una variabile indicatrice che assume il valore 1 (e quindi ha un peso nel modello) per composti con 3 o più anelli fusi.

La potenza cancerogena in topi è espressa da BRM. BRM è log (Peso Molecolare/TD50). TD50 è la dose di sostanza che dimezza la probabilità di un animale sperimentale di rimanere senza tumori per la durata della sua vita. Alti valori di BRM indicano alta potenza cancerogena.

$\Sigma \text{MR}_{2,6}$  è la somma degli ingombri sterici (rifrattività molare) dei sostituenti in orto sull'anello aromatico.  $\text{MR}_3$  è la rifrattività molare dei sostituenti nella posizione meta sull'anello. ES(R) è la costante di Charton (ingombro sterico) per i sostituenti sul gruppo funzionale aminico. I (monoNH<sub>2</sub>) e I (diNH<sub>2</sub>) assumono il valore 1 per composti - rispettivamente - con uno o due gruppi aminici.

È bene precisare che questi modelli non sono modelli a priori, inventati teoricamente, ma nascono dalla combinazione di osservazione e teoria. Le equazioni riportate nella Tabella sono state generate partendo dalla disponibilità di dati sperimentali: 88 sostanze di cui esisteva l'esperimento di mutagenesi in *Salmonella*\*, nel ceppo TA98; e 37 sostanze provate sperimentalmente per la cancerogenesi nei topi. Partendo dalla disponibilità di questi dati, sono stati calcolati i valori dei descrittori molecolari per le stesse sostanze. Successivamente, un'analisi statistica ha permesso di individuare il legame tra i dati biologici (sperimentali) e i dati chimici (calcolati): il risultato sono le equazioni in Tabella.

Un aspetto fondamentale del procedimento è l'uso della statistica (più in particolare, statistica multivariata\*). I modelli QSAR infatti nascono dall'analisi

statistica di dati (attività biologica contro descrittori chimici), e la statistica fornisce dei criteri di bontà, accettabilità e affidabilità per quel che riguarda i modelli ottenuti. Bastano i criteri forniti dalla statistica? Per quali scopi? Se vogliamo semplicemente andare a studiare i meccanismi di azione e avere delle “valutazioni medie” sui dati, i criteri puramente statistici possono in gran parte bastare. Tuttavia, questi modelli possono avere anche una ricaduta pratica notevole, per esempio quando sono usati a scopo regolativo. In casi come questi, sarà bene cercare anche altri criteri di validazione, che si affianchino a quelli formali e probabilistici che fornisce la statistica. Questi criteri “più rigorosi” possono venire dai ragionamenti e dalle prove di tipo meccanicistico. Per esempio, in un lavoro di modellizzazione della potenza mutagenica in *Salmonella typhimurium* di aldeidi alifatiche\*, abbiamo trovato che le proprietà (descrittori) molecolari correlate statisticamente con l'attività tossica corrispondevano a quelle attese per spiegare il tipo di reattività di queste molecole. In altri termini, la coincidenza tra risultato dell'analisi statistica e conoscenza meccanicistica dà maggiore forza al modello generato, e permette di usarlo con maggiore fiducia in caso di applicazioni pratiche (come la stima o predizione del rischio associato ad aldeidi per cui non esiste il dato sperimentale).

Il maggior limite del metodo di Hansch per stimare la mutagenicità e/o cancerogenicità di sostanze prive di dati sperimentali nasce non da suoi limiti interni, ma da un problema pratico: per applicarlo c'è bisogno che esista un certo numero - statisticamente sufficiente - di sostanze della stessa classe chimica e con lo stesso meccanismo d'azione (congeneri) per cui gli esperimenti siano già stati eseguiti. A quel punto si può elaborare il modello QSAR, e poi applicarlo a qualsiasi altra sostanza congenerica. Purtroppo, una tale base di dati esiste solo per poche classi chimiche. In una statistica fatta alcuni anni fa su una banca dati di ottocento sostanze provate per la cancerogenesi, le ammine aromatiche erano quasi duecento. Questo perché le ammine aromatiche sono molto importanti dal punto di vista ambientale e industriale, quindi vengono saggiate sperimentalmente. Altri tipi di sostanze, come alcheni alogenati o alcoli alogenati, sono così poco numerose che non ha nessun senso fare un modello struttura-attività.

Per far fronte a tali difficoltà, negli anni sono stati sviluppati vari approcci “generalisti”, non per singole classi chimiche ma per gruppi di sostanze non congeneriche; questi in teoria dovrebbero essere capaci di predire e identificare qualsiasi tipo di mutageno o cancerogeno indipendentemente dalla classe chimica.

Approcci di questo genere sono di diversa tipologia. Ci sono approcci puramente qualitativi: esperti umani si siedono a tavolino, guardano la formula della sostanza e in base alla loro esperienza stabiliscono se la sostanza contiene un'allerta strutturale. Persone esperte riescono a dare spiegazioni e predizioni di portata non banale. Esistono poi approcci qualitativi o semi-quantitativi che sono stati trasformati in programmi di computer come *Oncologic*, *DEREK*, *Multicase*. A eccezione di *Oncologic*, sono tutti prodotti commerciali. Questo tipo di approcci sono basati, di nuovo, essenzialmente sul riconoscimento di sottostrutture. Esistono poi approcci più simili al metodo di Hansch, come TOPKAT.

Per verificare l'affidabilità di tali approcci “generalisti”, sia commerciali sia non, negli anni scorsi sono stati condotti tre studi molto importanti dal *National Toxicology*



*Program* (NTP) statunitense, un organismo che continua a fare esperimenti di mutagenesi e cancerogenesi chimica su grande scala. Sono state pubblicate liste di sostanze che non erano ancora state saggiate sperimentalmente, ma che lo sarebbero state in seguito. Di queste, si è chiesto a chi lo volesse di presentare predizioni basate su criteri di relazioni struttura-attività prima che fossero resi noti i risultati sperimentali. Questi studi comparativi - molto importanti - erano volti uno alla predizione della mutagenicità in *Salmonella* e l'altro alla predizione della cancerogenicità nei roditori.

Nello studio comparativo per la predizione della mutagenesi, il risultato migliore è stato ottenuto dall'esperto Ashby, che ha predetto correttamente il maggior numero di sostanze mutagene o non mutagene (quasi il 75%). Anche i sistemi computerizzati TOPKAT e CASE (antenato di *Multicase*) sono andati bene.

Nel primo studio comparativo per la predizione della cancerogenesi, gli esperti Tennant e Ashby sono arrivati ad una accuratezza del 75%, mentre i vari altri approcci non superavano il 60-65% (ed alcuni erano al livello molto inferiore).

Nel secondo studio comparativo per la predizione della cancerogenesi, le predizioni erano alquanto inferiori, con un massimo di accuratezza del 65% (di nuovo, gli esperti umani ottenevano un risultato migliore dei sistemi computerizzati).

Alla luce di queste e di altre ricerche, la conclusione è che questi sistemi "generalisti" per sostanze non congeneriche hanno un livello di incertezza maggiore di quello che ha il metodo di Hansch per gruppi di congeneri. Tuttavia, pur con questa incertezza, essi forniscono un aiuto molto valido nella stima del rischio per sostanze senza dati sperimentali. Essi infatti sono sistemi molto efficaci per screening generali su grandi numeri di sostanze, e per stabilire delle priorità nella sperimentazione (infatti, essendo la sperimentazione di cancerogenesi lunga e costosa, e richiedendo il sacrificio di molti animali, è essenziale concentrarsi sulle sostanze più "sospette"). Da questo punto di vista, è molto istruttiva l'esperienza dell'NTP. Giunti al traguardo delle 400 sostanze saggiate sperimentalmente, è stata elaborata una statistica separando le sostanze in due gruppi: due terzi erano state saggiate perchè per l'appunto esistevano "sospetti" (vi erano dei dati di mutagenesi positivi, oppure le sostanze contenevano allerte strutturali), mentre un terzo lo è stato per obblighi legislativi. È interessante notare che i due terzi di sostanze selezionate o perchè mutagene o per criteri struttura-attività (allerte), sono risultate quasi per l'80% effettivamente cancerogene. In quel terzo di sostanze selezionate in base a considerazioni di produzione ed esposizione, i cancerogeni erano valutabili tra il 10 e il 20%. Questo è sicuramente un successo notevole dell' uso di concetti struttura-attività nel definire le sostanze prioritarie nell'ambito di processi di stima del rischio.

Più in generale, i metodi struttura-attività - essendo modelli - non sostituiscono la sperimentazione, ma possono darle un supporto scientifico molto potente; servono per estrarre informazioni dai dati, soprattutto i metodi più quantitativi (tipo QSAR), per sintetizzare informazioni e per generare ipotesi che possono essere messe alla prova con nuovi esperimenti. Servono poi per generare liste di priorità nella sperimentazione e quindi avere dei criteri per usare nel modo migliore le risorse disponibili. In questo modo aumentano la probabilità di successo nel processo di stima del rischio delle sostanze chimiche.

### Riferimenti bibliografici

Ariens EJ. Domestication of chemistry by design of safer chemicals: structure-activity relationships. *Drug Metab Rev* 1984;15:425-504.

Hansch C, Hoekman D, Gao H. Comparative QSAR: toward a deeper understanding of chemico-biological interactions. *Chem Revs* 1996;96:1045-75.

### Per saperne di più

Benigni R. *Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) models of mutagens and carcinogens*. Boca Raton: CRC Press; 2003.

Benigni R. Structure-activity relationship studies of chemical mutagens and carcinogens: mechanistic investigations and prediction approaches. *Chem Revs* 2005;105:1767-1800.

Franke R, Gruska A. General introduction to QSAR. In: Benigni R. (Ed.). *Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) models of mutagens and carcinogens*. Boca Raton: CRC Press;2003. p. 1-40.

Hansch C, Hoekman D, Leo A *et al.* Chem-bioinformatics: comparative QSAR at the interface between chemistry and biology. *Chem Revs* 2002;102:783-812.

## CLASSIFICAZIONE DI UNA SOSTANZA CHIMICA E GUIDA ALLA LETTURA DELLE ETICHETTE DI PERICOLO

Paola Di Prospero Fanghella

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

I livelli di vita attuali comportano l'esposizione a un numero elevatissimo di sostanze chimiche, tra le quali molte sono ritenute pericolose per la loro capacità di provocare effetti dannosi sull'uomo e sull'ambiente.

Il sistema normativo in vigore per la gestione dei prodotti chimici prevede per le sostanze nuove, prima delle loro immissione sul mercato, lo svolgimento di prove per la valutazione dei rischi che possono presentare per la salute umana e l'ambiente, mentre le sostanze esistenti, che rappresentano più del 99% del volume totale delle sostanze sul mercato, non sono soggette agli stessi obblighi in fatto di sperimentazione. Le sostanze esistenti ad alto volume di produzione sono oggetto di una valutazione completa dei rischi effettuata dalle autorità degli Stati membri a norma del Regolamento n. 793/93/CE.

Il totale delle sostanze cosiddette "esistenti", che erano cioè in commercio già dal 1981, era di circa 101.000, come già indicato da Benigni, alle quali si sono aggiunte negli anni successivi le nuove, circa 4.000. È stato stimato che circa 35.000 potrebbero risultare pericolose per la salute umana e/o per l'ambiente.

Finora il controllo e la gestione di queste sostanze e delle loro miscele sono stati attuati mediante quattro strumenti normativi:

- la Direttiva 67/548/CE e successive modifiche che riguarda la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura delle sostanze pericolose;
- la Direttiva 1999/45/CE e successive modifiche per la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura dei preparati pericolosi;
- la Direttiva 76/769/CE e successive modifiche che gestisce le restrizioni e i divieti di impiego per alcune sostanze e preparati ritenuti pericolosi (si tratta di uno strumento per agire quando si viene a conoscenza di determinati pericoli e se ne vuole limitare l'utilizzo);
- il Regolamento delle sostanze esistenti n. 793/93/CE e successive modifiche, che prevede la valutazione del rischio per le sostanze commercializzate ad alti livelli di produzione (> 1.000 t/anno).

A questi quattro strumenti principali si affianca una normativa correlata che regola altri ambiti, quali i rifiuti, le industrie ad alto rischio, la sicurezza dei lavoratori, ecc. Dunque, il quadro normativo globale è abbastanza complesso.

### Classificazione di pericolo

Pur tenendo conto che la produzione e l'uso delle sostanze chimiche sono fondamentali per lo sviluppo economico di tutti i Paesi, è necessario rendere il più basso possibile il rischio per la salute e per l'ambiente. L'obiettivo principale della classificazione di pericolo e dei sistemi di informazione è proteggere la salute umana e l'ambiente.

Il primo passo consiste nell'individuare i pericoli specifici connessi all'uso dei prodotti chimici e quindi la scelta dei mezzi di informazione idonei e facilmente comprensibili dagli utilizzatori.

I diversi strumenti di informazione di cui si dispone sono diretti a fasce diverse di popolazione e a situazioni diverse:

1) l'etichetta per il pubblico è lo strumento di informazione immediata per il consumatore;

2) l'archivio preparati che, in caso di incidente permette di risalire, attraverso i Centri Antiveleno, alla composizione del prodotto implicato, necessaria per porre in atto le misure di emergenza successive (individuare l'antidoto per una certa sostanza, ad esempio);

3) la scheda di sicurezza, destinata esclusivamente ai luoghi di lavoro.

La classificazione e l'etichettatura di una sostanza pericolosa sono due fasi distinte. Innanzitutto vi è la classificazione ufficiale a livello europeo: un gruppo tecnico di esperti si riunisce presso il Centro Comune di Ricerca di Ispra (Commissione Europea) e prende in esame le singole sostanze, in base ovviamente a liste di priorità, per verificare quelle che possono presentare dei pericoli per la salute umana e per l'ambiente. Attualmente si valutano tutti i principali effetti che possono essere correlati all'uso.

Poiché questo procedimento richiede molto tempo poche sostanze, rispetto al totale (circa 7.000-8.000 sostanze delle 35.000 esistenti potenzialmente pericolose), sono state classificate ufficialmente. Di conseguenza, in futuro si prevede di valutare soltanto le proprietà più rilevanti e cioè gli effetti cancerogeni, mutageni, tossici per la riproduzione e sensibilizzanti respiratori.

A causa della impossibilità di valutare singolarmente tutte le sostanze pericolose è stato introdotto il concetto di "autoclassificazione": il responsabile dell'immissione sul mercato di una sostanza non presente nella lista ufficiale è tenuto a effettuare la classificazione secondo i criteri della Direttiva. Per applicare l'autoclassificazione il responsabile deve quindi procedere alla ricerca di tutti i dati esistenti in letteratura, in base ai quali deve applicare i criteri per la classificazione. Si richiede perciò l'opera di una persona competente che sia in grado di tradurre la capacità di produrre effetti tossici nelle "classi di pericolo" previste dalla norma.

Quali sono gli effetti che vengono presi in considerazione? La tossicità di tipo acuto, l'irritazione, la corrosività, la sensibilizzazione, la tossicità dovuta ad esposizione ripetuta, gli effetti mutageni, gli effetti cancerogeni e la tossicità per la riproduzione.

Gli effetti possono essere locali, come l'effetto corrosivo sulla pelle per contatto cutaneo, l'irritazione oculare e l'irritazione della pelle e delle mucose oppure possono essere anche più subdoli, i cosiddetti effetti sistemici su organi bersaglio diversi dal sito di applicazione: ad esempio, una sostanza può anche essere assorbita per via cutanea e poi agire sul fegato, che diventa così l'organo bersaglio.

Gli effetti possono essere immediati, nel senso che la loro comparsa segue immediatamente l'esposizione (ad esempio, ustioni o, addirittura, la morte), oppure ritardati, perché si hanno dopo un'esposizione continua o dopo un'esposizione ripetuta (ad esempio, gli effetti sulla riproduzione).

Un parametro importante da considerare è la reversibilità. Ci sono effetti reversibili, come ad esempio l'alterazione dei parametri ematici, che quando finisce l'esposizione scompaiono, ed effetti irreversibili, sicuramente molto più gravi.

Affinché una sostanza pericolosa possa esercitare il suo potenziale di pericolosità è necessario che sia assunta da parte dell'organismo e questo avviene per tre diverse vie: orale, inalatoria e cutanea. Le vie di esposizione sono molteplici e riguardano l'ambiente e la catena alimentare. Va dunque considerata la sommatoria di queste possibili vie di esposizione. Per questo aspetto si rimanda alla relazione di Emanuela Testai.

Per valutare le proprietà tossicologiche di un prodotto e ottenere dei dati è necessario sottoporre a test gli animali da laboratorio esponendoli a tale sostanza. L'esposizione acuta è un'esposizione singola per ingestione o per contatto cutaneo, oppure di breve durata per inalazione di quattro ore. Quella subacuta dura ventotto giorni, subcronica novanta giorni, e cronica due anni perché rappresenta l'intera vita del ratto e quindi può mimare l'intera vita dell'uomo. I processi relativi all'interazione di sostanze tossiche con l'organismo umano e le modalità di valutazione della tossicità sono trattati nella relazione di Emanuela Testai.

Gli orientamenti attuali sono volti a risparmiare al massimo l'utilizzo di animali. Molte sono le iniziative in questo campo affinché siano sostituiti il più possibile i metodi *in vivo* con i metodi *in vitro*, purché ovviamente validati. C'è una ampia promozione allo sviluppo di metodi alternativi.

La riduzione del numero degli animali da sottoporre a sperimentazione si può raggiungere, inoltre, modificando le linee guida esistenti. Non ultime e molto importanti le strategie di saggio: evitare cioè il passaggio diretto alla sperimentazione animale partendo da una serie di valutazioni, ad esempio individuando le affinità tra sostanze in base a relazioni struttura/attività (SAR), come è bene illustrato nell'intervento di Romualdo Benigni.

Segue lo stesso orientamento anche la Direttiva 1999/45/CE sui preparati, che ne vieta la sperimentazione sugli animali eccetto per casi particolari, o quando si possa ipotizzare che una classificazione che si basa semplicemente sulla composizione della miscela, quindi sulla conoscenza delle proprietà delle singole sostanze, possa non rispecchiare la reale pericolosità del preparato. Allo scopo di sottoporre le miscele a sperimentazione su animali vertebrati deve essere richiesta l'autorizzazione all'autorità competente.

## Etichetta di pericolo

La conoscenza delle proprietà pericolose viene trasformata in un messaggio destinato agli utilizzatori della sostanza, cioè in un'etichetta che viene apposta sul contenitore diventando disponibile per i consumatori e/o per i lavoratori.

La prima cosa che appare sull'etichetta, la più immediata, è il simbolo, che dà un'idea della gravità del pericolo.

Le frasi di rischio (frasi R), invece, definiscono il tipo di pericolo. Se, per esempio, il simbolo è quello del prodotto tossico (il teschio su due tibie incrociate), la frase di rischio potrebbe essere "tossico per inalazione", indicando anche la via di esposizione per la quale c'è questa tossicità.

I consigli di prudenza (frasi S) hanno un peso minore ma sono comunque importanti e indicano quali sono le precauzioni di uso, stoccaggio o di emergenza in caso di infortunio o dispersione accidentale. Se si tratta di una sostanza non particolarmente pericolosa si potrà trovare l'indicazione "lavare con acqua in caso di contatto cutaneo", se si tratta invece di una sostanza particolare si troverà l'indicazione "lavare con qualcosa" che è il produttore stesso ad indicare come misura in caso di contaminazione accidentale.

La Figura 1 mostra i simboli attualmente utilizzati per l'etichettatura di pericolo con le relative indicazioni. Alcuni simboli sono in comune a diverse classi di pericolo. Il teschio su due tibie incrociate può significare "tossico" perché applicato ad una sostanza dotata di tossicità acuta o ripetuta, oppure relativa ad effetti specifici. Questo stesso simbolo si usa per cancerogeni, mutageni e tossici per la riproduzione di prima e seconda categoria. La stessa cosa vale per la cosiddetta "Croce di S. Andrea" che può indicare sia il nocivo che l'irritante. Il simbolo della classificazione ambientale si applica per le classi di pericolo per l'ambiente.



Figura 1 - Simboli di pericolo

L'etichetta deve essere scritta in lingua italiana, ma a volte i produttori non rispettano questa norma. Sono permesse le cosiddette "etichette multilingue" per la circolazione in vari Paesi europei ma, quando sono troppe, l'etichetta diventa illeggibile e questo non è consentito.

A titolo di esempio la Figura 2 riporta l'etichetta di un solvente per vernici: l'acetato di isobutile che riporta la frase di rischio R 66: "L'esposizione ripetuta può provocare secchezza e screpolature della pelle".



Figura 2 - Esempio di etichetta

L'indicazione pone l'accento sull'azione sgrassante per la pelle dovuta all'uso ripetuto di tale sostanza. Questo effetto, che di per sé non sarebbe problematico, diventa importante perché rende la pelle facilmente aggredibile da parte di altre sostanze tossiche, eliminando una barriera naturale all'ingresso di tali sostanze.


Questa frase R 66 viene applicata soltanto in base alle osservazioni pratiche perché non ci sono, al momento, linee guida di saggi su animali per poterla applicare. Ci si basa quindi su casi, in numero significativo, di persone che hanno avuto questo tipo di effetto, riportati da ospedali o cliniche dermatologiche.




Una tipologia di prodotti con la quale abbiamo possibilità di venire a contatto sono i detersivi. Il detersivo indicato in Figura 3 contiene cloruro di benzalconio e cloruro di didecildimetilammonio. Queste sostanze, in concentrazioni comprese tra il 5% e il 10%, risultano comunque irritanti. Le sostanze pure, invece, sono corrosive.

**DETERGENTI**

Tensioattivi cationici: cloruro di benzalconio; cloruro di didecildimetilammonio





R 21/22: nocivo a contatto con la pelle e per ingestione

R 34: provoca ustioni

R 50: altamente tossico per gli organismi acquatici

A concentrazioni comprese tra il 5% e il 10% risultano irritanti  
Nei casi di intossicazione grave si possono verificare collasso, paralisi muscolari, alterazioni epatiche e renali

Figura 3 - Un esempio di detersivo

La classificazione riportata in Figura 3 si riferisce alle sostanze pure, quindi la frase R 34 "provoca ustioni" ovviamente si applicherebbe alla sostanza pura e non al detersivo nel quale è presente in forma diluita. Se però la concentrazione nel detersivo è superiore al 5% questo risulterà classificato come irritante.

Nell'esempio della Figura 4 il potere disinfettante è dovuto alla formaldeide che però, per contatto cutaneo, provoca un aumento della reattività agli agenti chimici. Questa azione è una delle caratteristiche tenuta sotto controllo per i prodotti di largo consumo. La sensibilizzazione è infatti uno degli effetti più pericolosi in quanto ci si può sensibilizzare in seguito a una prima esposizione - chiamata "dose di induzione" - a una certa quantità di sostanza, poi è sufficiente venire a contatto con una quantità veramente minima per sviluppare la reazione allergica.


È importante considerare le diverse fasce di popolazione che possono risultare esposte ad una determinata sostanza: ad esempio, gli imbalsamatori usano quantità enormi di formaldeide. Ci sono ambiti lavorativi o ambiti di consumo in cui l'esposizione ad alcune sostanze può essere rilevante.


La formaldeide è stata inizialmente sostituita in molte applicazioni con una sostanza simile, la glutaraldeide, risultata successivamente essere anch'essa un sensibilizzante cutaneo e respiratorio.

D'altra parte quando si cerca un sostituto dotato di minore tossicità per una sostanza pericolosa si richiede anche che abbia gli stessi effetti, ma quando una

**DISINFETTANTI**

ALDEIDI  
Formaldeide





Cancerogeno di categoria 3

R23/23/25: Tossico per inalazione, contatto con la pelle e ingestione

R34: Provoca ustioni

R40: Possibilità di effetti cancerogeni - prove insufficienti

R43: Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle

Gas con odore pungente, cancerogeno e sensibilizzante. A concentrazioni anche molto basse (0,5 ppm) provoca irritazione oculare; difficoltà respiratoria fino a gravi lesioni polmonari a 50 ppm. È usato come conservante nei cosmetici fino a un massimo di 0,1% nei prodotti che entrano in contatto con la pelle

Figura 4 - Un esempio di disinfettante



sostanza svolge la stessa azione di un'altra vuol dire che sono simili le strutture chimiche. Diventa quindi difficile trovare un compromesso. Si deve allora trovare un sostituto che abbia proprietà analoghe ma non le stesse caratteristiche di tossicità, oppure, quando questo non sia possibile, misure di controllo e precauzioni d'uso, cioè tutto quello che è possibile per ridurre il rischio. Affinché una sostanza pericolosa possa provocare degli effetti deve esserci esposizione, quando non si può eliminare la sostanza, si limita l'esposizione, quindi si diminuisce il rischio.

L'ultimo esempio riguarda i cosmetici. Nei cosmetici spesso è contenuta una sostanza che si chiama idrochinone, uno schiarente usato in larga quantità, per esempio nel caso dell'insorgenza di macchie solari. Si è visto che già da concentrazioni pari al 5% è fortemente irritante, per cui se ne è chiesta l'eliminazione dalle formulazioni che vengono usate per la pelle, mentre nelle tinture per capelli può essere utilizzato fino allo 0,3%. Questo è solo un esempio di come vengono utilizzati i risultati degli studi.

Gli insetticidi costituiscono un altro problema perché hanno una composizione molto simile a quella degli antiparassitari per uso agricolo. Anche quelli che utilizzano sostanze di origine naturale possono essere irritanti, poiché contengono piretro, resmetrina e tetrametrina, pur non risultando particolarmente problematici perché gli effetti sono reversibili in poco tempo; lo sono invece molto di più quelli a base di naftalina, canfora e diclorobenzene perché sono nocivi per ingestione ed inalazione; addirittura, il paradichlorobenzene è un sospetto cancerogeno.

### Archivio preparati

L'informazione più immediata per il pubblico è certamente rappresentata dall'etichetta, ma in caso di incidente le informazioni in essa riportate possono risultare insufficienti. In questo caso è di notevole supporto la consultazione dell'Archivio preparati. L'Archivio preparati è una banca dati dei preparati pericolosi, gestita dall'Istituto Superiore di Sanità, alla quale possono accedere i Centri Antiveneni. Quando avviene un incidente, il medico che interviene deve chiamare il Centro Antiveneni che, a sua volta, si collega a questo archivio. L'accesso non è libero per via del segreto commerciale da salvaguardare. Le ditte comunicano la composizione dei preparati a condizione che questa non venga divulgata, quindi la riservatezza deve essere assicurata. Le informazioni contenute nell'Archivio sono: nome e indirizzo del distributore, i nomi commerciali, le tipologie di impiego e, cosa più importante, la composizione qualitativa e quantitativa completa del prodotto.

È anche uno strumento di monitoraggio. Qualora ci si renda conto che l'accesso a questo archivio è stato richiesto più volte per uno stesso tipo di prodotto, chiaramente questo può essere un indice che quel prodotto per vari motivi può dare dei problemi. È un campanello d'allarme per valutare certe tipologie di prodotti.

Il Centro Antiveneni di Milano ha diffuso un decalogo piuttosto succinto ma allo stesso tempo utile perché fornisce le informazioni più importanti. Esorta a leggere molto attentamente le etichette dei prodotti, a identificare i simboli di pericolo sull'etichetta, a seguire le norme di impiego (molto spesso le cose sono scritte e spiegate ma poi non vengono seguite), a tenere fuori dalla portata dei bambini tutti i prodotti pericolosi, a non usare mai le bottiglie vuote dell'acqua minerale come recipienti per sostanze diverse. Il decalogo invita inoltre a non abituare i bambini a considerare i farmaci come caramelle, magari per esortarli a prendere il farmaco (c'è il rischio

che il bambino prenda poi autonomamente anche altri medicinali); a non forzare mai i tappi "premi e svita", cioè le chiusure di sicurezza dei flaconi progettate appositamente affinché non siano accessibili e soprattutto non mischiare mai prodotti diversi. Infatti, un'altra cosa che accade spesso è che pensando di poter ottenere un prodotto che pulisce meglio si mischia l'acido muriatico con la varechina, con il risultato che si respira il cloro che si libera con una conseguente intossicazione.

A seguito del non soddisfacente funzionamento degli strumenti normativi in vigore, nel febbraio 2001 la Commissione Europea ha pubblicato un Libro Bianco intitolato *Strategia per una politica futura in materia di sostanze chimiche*, che ha portato alla revisione dell'intero quadro normativo, dal quale è scaturita la pubblicazione del Regolamento REACH (*Registration, Evaluation and Authorisation of CHemicals*), che entrerà in vigore dal 1° giugno 2007, disponibile all'indirizzo Internet: [http://www.regolamentoreach.it/UserFiles/File/Regolamento%201907\\_2006.pdf](http://www.regolamentoreach.it/UserFiles/File/Regolamento%201907_2006.pdf)

È un sistema che presuppone: una registrazione per tutte le sostanze che vengono messe in commercio per quantità superiori ad una tonnellata, quindi con un numero minimo di informazioni di base; la valutazione per le sostanze selezionate come prioritarie dagli Stati Membri; l'autorizzazione per quelle che invece sono particolarmente pericolose. Non si potranno più mettere in commercio alcuni tipi di sostanze se non previa autorizzazione, dopo averne fatta una estensiva valutazione del rischio. Le sostanze soggette all'autorizzazione saranno: i cancerogeni, i mutageni, i tossici per la riproduzione e le sostanze organiche persistenti, come pure i distruttori endocrini e i PBT, cioè quelle che si possono accumulare.

#### Strategie per una futura politica sulle sostanze chimiche: Il REACH-System

Un sistema unificato per le sostanze chimiche esistenti e nuove

- R**egistration (tutte le sostanze > 1 t)
- E**valuation (tutte le sostanze selezionate come prioritarie)
- A**uthorisation (per sostanze particolarmente pericolose)
- C**hemical Substances

La strategia della riduzione del rischio si propone l'eliminazione delle sostanze più dannose, quindi la sostituzione, se questa è possibile, o comunque la restrizione della commercializzazione.

Presso il sito web dell'*European Chemical Bureau* di Ispra (<http://ecb.jrc.it>) si possono trovare molte informazioni, come pure nel sito dell'Istituto Superiore di Sanità (<http://www.iss.it/spps>) nel quale è riportata la lista di tutte le sostanze pericolose con le relative classificazioni, e la normativa strettamente correlata al settore.

## AGENTI MUTAGENI E/O CANCEROGENI AMBIENTALI

Riccardo Crebelli

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### Impatto ed eziologia delle patologie tumorali

Le patologie tumorali nel loro insieme rappresentano un'importante fattore di mortalità, responsabile di milioni di decessi ogni anno. L'Organizzazione Mondiale della Sanità include tra le prime 20 cause di morte della popolazione mondiale i tumori del polmone, dello stomaco, del colon/retto e del fegato.

Il contributo totale delle patologie tumorali alla mortalità è stimato a livello globale attorno al 5%, ma con importanti differenze geografiche. La mortalità per tumore incide infatti soprattutto nei Paesi sviluppati, nei quali la mortalità sia per malattie infettive sia per denutrizione ha un peso limitato. In Italia i tumori rappresentano la seconda causa di morte dopo le malattie del sistema circolatorio, essendo responsabili di circa il 30% di tutti i decessi (Tabella 1).

**Tabella 1** - Mortalità per cause ed età, anno 2001, quozienti per 10.000 abitanti (fonte: ISTAT)

Causa	Classi di età					Totale (%)
	0-4	5-24	25-54	55-74	75>	
Malattie infettive e parassitarie	0,1		0,2	1,1	4,0	0,6
<b>Tumori</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>	<b>5,5</b>	<b>57,2</b>	<b>166,7</b>	<b>28,9</b>
Disturbi psichici/ malattie del sistema nervoso	0,4	0,2	0,6	3,5	38,0	4,2
Malattie del sistema circolatorio	0,4	0,2	2,9	37,6	385,7	41,5
Malattie dell'apparato respiratorio	0,2	0,1	0,3	5,0	57,0	5,9
Malattie dell'apparato digerente	0,1		0,9	7,0	30,2	4,4
Altri stati morbosi	8,5	0,2	0,9	7,2	50,3	6,6
Stati morbosi mal definiti	0,4	0,1	0,4	0,7	9,7	1,2
Traumatismi e avvelenamenti	0,5	2,0	2,9	4,1	25,3	4,7
<b>Totale</b>	<b>11,1</b>	<b>3,3</b>	<b>14,5</b>	<b>123,4</b>	<b>767,0</b>	<b>97,8</b>

La prevalenza di morti per tumore nei Paesi sviluppati è primariamente una conseguenza dell'allungamento della durata della vita della popolazione. Il cancro è infatti una patologia degenerativa, la cui incidenza aumenta esponenzialmente con l'età: conseguentemente l'allungarsi della vita e l'invecchiamento della popolazione comportano un'accresciuta incidenza di patologie tumorali.

L'insorgenza di un tumore non è però l'inevitabile epilogo di un processo degenerativo correlato all'invecchiamento, ma il risultato della complessa interazione tra fattori endogeni e ambientali. Confrontando popolazioni diverse è infatti evidente come sia

l'incidenza totale di tumori, sia soprattutto l'incidenza di specifiche patologie tumorali, possano differire drasticamente nei diversi Paesi, anche considerando l'effetto dell'età (Tabella 2).

**Tabella 2** - Variazione nella frequenza di specifiche patologie tumorali in aree a bassa e alta incidenza

Tumore	Area ad alta incidenza	Area a bassa incidenza	Differenza (massima:minima)
Bocca	Francia	Singapore	80
Nasofaringe	Honk Kong	Varsavia	300
Esofago	Francia (Calvados)	Israele	160
Stomaco	Giappone	USA (Los Angeles)	30
Fegato	Tailandia	Paraguay	110
Colon	USA	India	30
Prostata	USA	Cina	140
Vescica	Italia	India	20
Retto	USA	Kuwait	20

Le differenze nelle incidenze di tumori osservate su base geografica, o in studi prospettici sulla stessa popolazione in ambienti diversi, per esempio su gruppi di emigranti, suggeriscono un ruolo determinante per fattori ambientali nell'eziologia dei tumori umani. L'esempio riportato in Tabella 3 si riferisce alla popolazione giapponese emigrante negli USA. Entro una generazione l'incidenza di tumori del colon, dello stomaco e della mammella diventa simile a quella della popolazione statunitense.

Sulla base della variazione nelle incidenze tumorali in aree ad alto e a basso rischio è possibile stimare il contributo dei fattori ambientali, assumendo che l'incidenza più bassa osservata rappresenti il livello spontaneo nell'uomo e che la quota eccedente sia dovuta a fattori ambientali. Seguendo questo approccio l'International Agency for Research on Cancer (IARC, Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro) ha concluso che a una quota prevalente di tutti i tumori umani, pari a circa l'80-90%, può essere attribuita un'eziologia ambientale (IARC, 1990).

**Tabella 3** - Variazione del pattern di tumori nella popolazione giapponese emigrante negli USA

Tumore del colon (basso in Giappone)	↑
Tumore della mammella (basso in Giappone)	↑
Tumore dello stomaco (alto in Giappone)	↓
Entro una generazione l'incidenza tumorale diventa simile a quella della popolazione USA (Doll e Peto, 1981)	

L'attività cancerogena legata agli agenti ambientali è illustrata anche nelle relazioni di Margherita Bignami ed Eugenia Dogliotti, che riprendono in considerazione e sviluppano gli argomenti trattati in questo paragrafo e nei successivi.

## Il ruolo prevalente del fumo di tabacco

L'identificazione degli specifici fattori ambientali implicati nell'eziologia del tumore umano è stato uno dei compiti più impegnativi per la ricerca epidemiologica nello scorso secolo e rappresenta tuttora un obiettivo prioritario con importanti ricadute in ambito sanitario, sociale ed economico. L'epidemiologo inglese Richard Doll (1999) ha proposto una ripartizione tra diversi fattori di rischio, basata su un'estesa analisi delle evidenze epidemiologiche disponibili, che viene oggi unanimemente condivisa nelle sue grandi linee (Tabella 4).

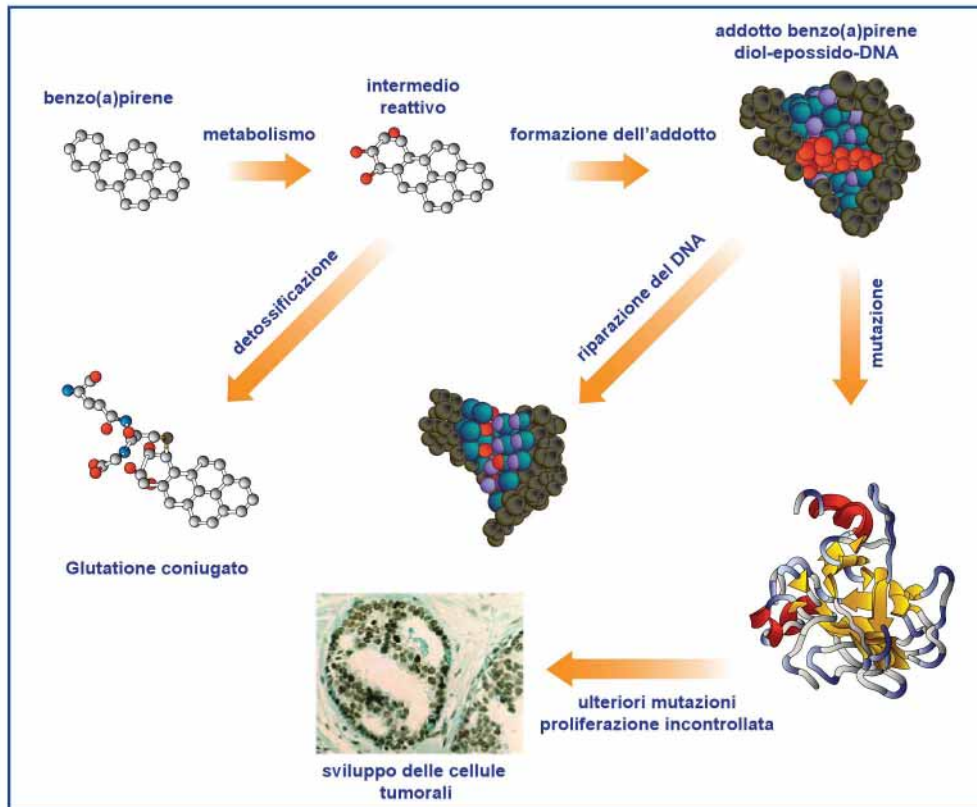
**Tabella 4** - Proporzione di tumori attribuibili a diversi fattori ambientali

Fattore	%
Fumo di tabacco (attivo)	29-31
Alcol	4-6
Dieta	20-50
Infezioni (parassiti, batteri, virus)	10-20
Radiazioni (ionizzanti, UV, a bassa frequenza)	5-7
Occupazione	2-4
Inquinamento ambientale (acqua, aria, cibo)	1-5
Ormoni	10-20
Inattività fisica	1-2

Secondo questa stima, il fumo di tabacco è senz'altro tra i fattori genericamente definibili come ambientali (cioè non endogeni) quello con maggiore impatto, essendo responsabile da solo di circa il 30% di tutti i tumori. Almeno otto tipi di tumore sono prevalentemente - o largamente - attribuibili al fumo di tabacco: tumore del polmone, della bocca, della faringe, dell'esofago, della laringe, del pancreas, del rene, e della vescica. Il ruolo prevalente del fumo sulla mortalità per tumore si osserva in tutti i Paesi sviluppati, con differenze tra i due sessi che rispecchiano la diversa abitudine al fumo. In Italia, sono attribuite al fumo di tabacco circa 39.000 morti per cancro all'anno.

Esiste una chiara correlazione tra l'incidenza di tumori e il numero di sigarette fumate, con incrementi del rischio relativo superiore a 10 volte nei forti fumatori. Anche la durata dell'abitudine al fumo è direttamente correlata al rischio di tumore polmonare: chi inizia a fumare nella prima adolescenza (cioè a meno di 15 anni) ha un rischio fino a 3-4 volte maggiore di manifestare un tumore a 60 anni rispetto a chi inizia in età adulta (superiore ai 25 anni).

L'effetto cancerogeno del fumo di tabacco è attribuito alle numerose sostanze cancerogene prodotte dalla combustione del tabacco e veicolate dal fumo. Tra queste, gli idrocarburi policiclici aromatici\* (IPA) hanno particolare rilevanza nell'eziologia del tumore polmonare. Gli IPA, di per sé chimicamente inerti, sono infatti attivati metabolicamente in derivati\* elettrofili\* reattivi da isoenzimi\* della famiglia del citocromo P450\* espressi prevalentemente nel polmone. I derivati reattivi formati sono capaci di legarsi al DNA, alterandone le capacità codificanti e inducendo mutazioni che innescano la sequenza di eventi che porta allo sviluppo neoplastico. La Figura 1 mostra uno degli eventi critici nello sviluppo neoplastico: l'inattivazione di un gene oncosoppressore\*, in seguito al legame covalente\* di un derivato reattivo del benzo(a)pirene sul DNA.



**Figura 1** - Inattivazione di un gene oncosoppressore in seguito al legame covalente di un derivato reattivo del benzo(a)pirene sul DNA

## Dieta e tumori

Mentre l'associazione tra abitudine al fumo e rischio di cancro è ampiamente spiegata dalla presenza di molteplici sostanze con riconosciuta attività cancerogena nel fumo di tabacco, l'associazione tra dieta e tumori, che pure emerge fortemente dalle analisi epidemiologiche, è più elusiva per quanto riguarda l'identificazione degli agenti responsabili. L'incidenza di tumori può infatti essere modificata da fattori dietetici sia in modo diretto, per la presenza di sostanze o contaminanti cancerogeni negli alimenti, sia in modo indiretto, alterando la risposta dell'organismo a fattori cancerogeni diversi (Tabella 5).

**Tabella 5** - Influenza della dieta sul rischio di cancro: possibili meccanismi

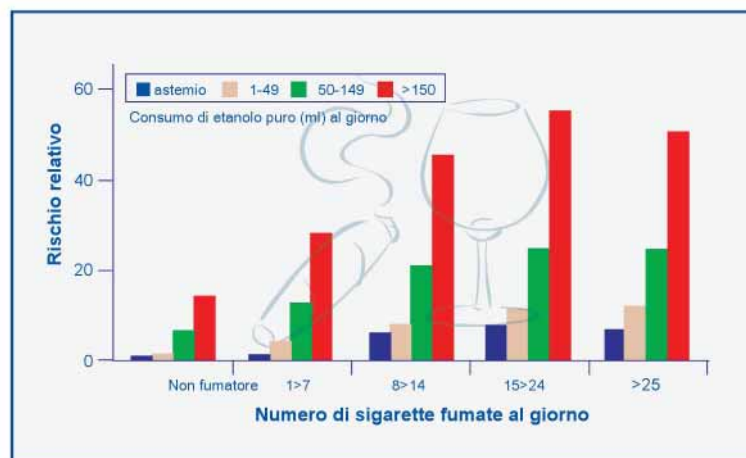
- Esposizione a componenti o contaminanti cancerogeni presenti nei cibi
- Formazione di cancerogeni durante la cottura o la conservazione degli alimenti
- Effetto protettivo di micronutrienti e di altri componenti della dieta (ad esempio, folati, vitamine)
- Effetti indiretti dell'obesità o della denutrizione (ad esempio, sul sistema immunitario e ormonale)

Gli studi epidemiologici hanno finora permesso di individuare solo alcuni specifici fattori di rischio cancerogeno nella dieta (Tabella 6).

**Tabella 6** - Fattori dietetici associati al rischio di tumore nell'uomo in base a evidenze epidemiologiche (Montesano 2001, Steinmetz 1996)

• Bevande alcoliche	Tumori del tratto digestivo superiore e del fegato
• Aflatossina B1	Tumore del fegato
• Pesce salato ("Chinese style")	Tumore del nasofaringe
• Cibi sotto sale o in salamoia	Tumore dello stomaco
• Ipernutrizione	Tumori dell'endometrio, rene, vescica, (colon, mammella, prostata)
• Carenza di frutta e verdure	Tumori del tratto digestivo superiore, stomaco, polmone

Tra questi fattori il consumo di bevande alcoliche ha un peso preminente: ad esso viene attribuito il 4-6% di tutti i tumori. Numerosi studi epidemiologici mostrano infatti una chiara associazione tra il consumo di alcolici e i tumori della cavità orale, della faringe, laringe, esofago e fegato. Il meccanismo, o i meccanismi, alla base dell'azione cancerogena dell'etanolo non sono del tutto chiariti. Pur non esistendo una diretta evidenza di attività cancerogena dell'alcol etilico negli animali da esperimento, questa sostanza risulta essere genotossica, inducendo alterazioni cromosomiche, inoltre è il precursore metabolico di un composto genotossico e cancerogeno, l'acetaldeide. Oltre a un effetto diretto sul DNA, è comunque probabile che nell'effetto cancerogeno dell'alcol siano implicati altri meccanismi, come l'induzione\*/inibizione enzimatica\*, la tossicità e la proliferazione cellulare rigenerativa nei tessuti bersaglio, o l'induzione di alterazioni ormonali. L'alcol etilico può inoltre facilitare l'ingresso nelle cellule di altre sostanze cancerogene poco solubili in acqua, aumentandone la biodisponibilità\*. Questo meccanismo è probabilmente implicato nel sinergismo tra fumo di tabacco e consumo di bevande alcoliche rispetto al rischio di tumori dell'esofago (Figura 2).



**Figura 2** - Sinergismo tra etanolo e tabacco sul rischio di tumore dell'esofago



Inoltre, numerose sostanze cancerogene possono essere presenti in piccola quantità negli alimenti (Tabella 7).

**Tabella 7** - Contaminanti cancerogeni o genotossici della dieta

Cancerogeno	Alimento
Amine eterocicliche (IQ)	Carne e pesce abbrustoliti
Idrocarburi policiclici aromatici	Alimenti grigliati, pesce affumicato, vegetali a foglia larga, molluschi (da aree inquinate) 10-100 µg/kg
Nitrosamine	Alimenti salati, affumicati, birra (fino 100 µg/kg)
Micotossine (aflatossine, ocratossina)	Cereali, verdure
Uretano	Pane, birra
Safrolo, metil-eugenolo	Vegetali
Idrazine	Funghi
Acrilamide	Patatine, prodotti da forno (150-4000 µg/kg)

Le aflatossine\*, ampiamente trattate da Marina Miraglia, sono prodotte da muffe\* del genere *Aspergillus* e rappresentano uno dei fattori primari di rischio per il tumore del fegato nel Sud-Est asiatico, area in cui la contaminazione delle derrate è favorita dalle condizioni climatiche. Nei Paesi occidentali hanno maggiore rilevanza tossicologica le amine\* eterocicliche, prodotte durante la cottura di carni e alimenti proteici a elevata temperatura, le nitrosamine, presenti nei cibi o formate nello stomaco in presenza dei nitriti/nitrati aggiunti come conservanti ai cibi, e gli IPA, presenti negli alimenti come contaminanti o come sottoprodotti di processi di conservazione (affumicamento).

Particolare interesse ha inoltre sollevato la recente, casuale scoperta dell'acrilamide, una sostanza neurotossica, genotossica e cancerogena, come contaminante degli alimenti. L'acrilamide si formerebbe durante la cottura per la reazione di Maillard\* da asparagina e glucosio o dalla metionina, con un meccanismo complesso non ancora del tutto delucidato. Una preliminare valutazione quantitativa del rischio di tumori attribuibile all'acrilamide suggerisce che questo agente possa rappresentare uno dei più importanti fattori di rischio cancerogeno nella dieta.

Comparativamente, un ruolo limitato o trascurabile viene oggi attribuito alle sostanze di sintesi presenti come residui negli alimenti (pesticidi, coloranti, additivi), ormai sottoposti ad uno stringente controllo che limita o bandisce all'origine l'impiego di sostanze per le quali non sia provata l'assenza di proprietà cancerogene.

### Altri fattori ambientali

Oltre al fumo di tabacco e alla dieta, l'ambiente di lavoro e l'inquinamento ambientale possono rappresentare altri fattori di rischio cancerogeno. La maggior parte dei cancerogeni umani noti è di fatto costituita da sostanze, una volta presenti in ambienti di lavoro. Per queste molecole gli studi epidemiologici hanno potuto dimostrare un'associazione tra esposizione e aumentata incidenza di patologie tumorali (Tabella 8).

**Tabella 8** - Cancerogeni umani (Gruppo 1 IARC) presenti nell'ambiente di lavoro (Siemiatycki, 2004)

Agente	Attività produttiva/impiego
Asbesto	Attività estrattive, cementifici, costruzioni
Arsenico	Fonderie, produzione di pesticidi
Cromo esavalente	Colorifici, concerie, saldatura
Benzene	Calzaturifici, industria chimica e petrolchimica
Pece	Cokerie
Cloruro di vinile	Produzione di PVC
Bis-clorometil etere	Manifattura plastiche
4-aminobifenile, benzidina, 2-naftilammina	Colorifici, produzione di pigmenti
Ossido di etilene	Fumigazione derrate, sterilizzazione
2,3,7,8-tetraclorodibenzodiossina	Produzione di bifenil policlorurati (PCB) e pesticidi clorurati, incenerimento dei rifiuti urbani

Tra i cancerogeni occupazionali più importanti si possono citare il benzene, l'asbesto, il cloruro di vinile. Secondo le stime attuali il 2-4% di tutti i tumori è attribuibile all'esposizione pregressa a cancerogeni in ambienti di lavoro. Le attuali normative sulla produzione delle sostanze chimiche e sulla protezione dei lavoratori dagli agenti mutageni e cancerogeni fanno ritenere che verosimilmente l'esposizione a cancerogeni nell'ambiente di lavoro, al di fuori di incidenti o episodi isolati, sia oggi più limitata, e che l'incidenza di tumori attribuibili all'esposizione ad agenti chimici durante l'attività lavorativa debba sensibilmente ridursi in futuro.

Anche l'inquinamento ambientale è responsabile di una quota di tumori umani, sebbene relativamente modesta rispetto ad altri fattori di rischio. Le attività umane contaminano l'ambiente in vario modo, con potenziale impatto sulla salute: tra queste, hanno una particolare rilevanza le emissioni dai veicoli e altri processi di combustione di materiale fossile che immettono nell'atmosfera un gran numero di composti tossici, cancerogeni inclusi, a cui l'uomo è esposto direttamente per via inalatoria o indirettamente attraverso la contaminazione dell'acqua e degli alimenti. L'inquinamento atmosferico, soprattutto nelle aree urbane, ha ricevuto negli ultimi anni grande attenzione per i possibili effetti sulla salute conseguenti alla presenza di sostanze cancerogene come il benzene e gli IPA. Gli studi epidemiologici condotti suggeriscono un eccesso di rischio per il tumore polmonare dell'ordine del 30-50% (rischio relativo di 1,3-1,5) per residenti in aree inquinate. Complessivamente, si stima che l'inquinamento atmosferico potrebbe essere responsabile di circa l'1% di tutti i tumori, una proporzione modesta ma non irrilevante quando tradotta nel numero vite perse (circa 30.000 l'anno in Europa). Ben maggiore impatto hanno comunque altre patologie dovute all'inquinamento atmosferico, soprattutto le patologie respiratorie e cardiocircolatorie legate alla esposizione a polveri sottili, responsabili secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità di circa 100.000 morti e 750.000 anni di vita persi per anno in Europa.

## Conclusioni

In conclusione, gli studi epidemiologici dimostrano che una quota prevalente di tutti i tumori è dovuta a fattori ambientali: insieme ad agenti infettivi (virus dell'epatite) e alle radiazioni, un ruolo importante è svolto dalla esposizione ad agenti chimici. Fumo di tabacco e alcol sono stati identificati come i fattori più importanti, insieme alla dieta che può modulare la frequenza di tumori con meccanismi diversi. Esposizioni occupazionali o a inquinanti ambientali sembrano giocare un ruolo più limitato. Questo scenario suggerisce che un'efficace prevenzione primaria del rischio di tumore possa essere realizzata anche attraverso scelte personali relative allo stile di vita.

## Riferimenti bibliografici

Doll R. Nature and nurture in the control of cancer. *European J Cancer* 1999;35:16-23.

Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Instit* 1981;66:1191-308.

International Agency for Research on Cancer. *Cancer: causes, occurrence and control*. Tomatis L (Ed.). (IARC Publications n. 110). Lyon: IARC; 1990.

Montesano R, Hall J. Environmental causes of human cancer. *European J Cancer* 2001;37:S67-S87.

Siemiatycki J, Richardson L, Straif K, Latreille B, Lakhani R, Campbell S, Rousseau MC, Boffetta P. Listing occupational carcinogens. *Environ Health Perspect* 2004;112:1447-59.

Steinmetz K, Potter JD. Vegetables, fruit and cancer prevention: a review. *J Am Dietetic Ass* 1996;96:1027-39.

## AMBIENTE E STILE DI VITA NEL PROCESSO DI CANCEROGENESI

Margherita Bignami

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

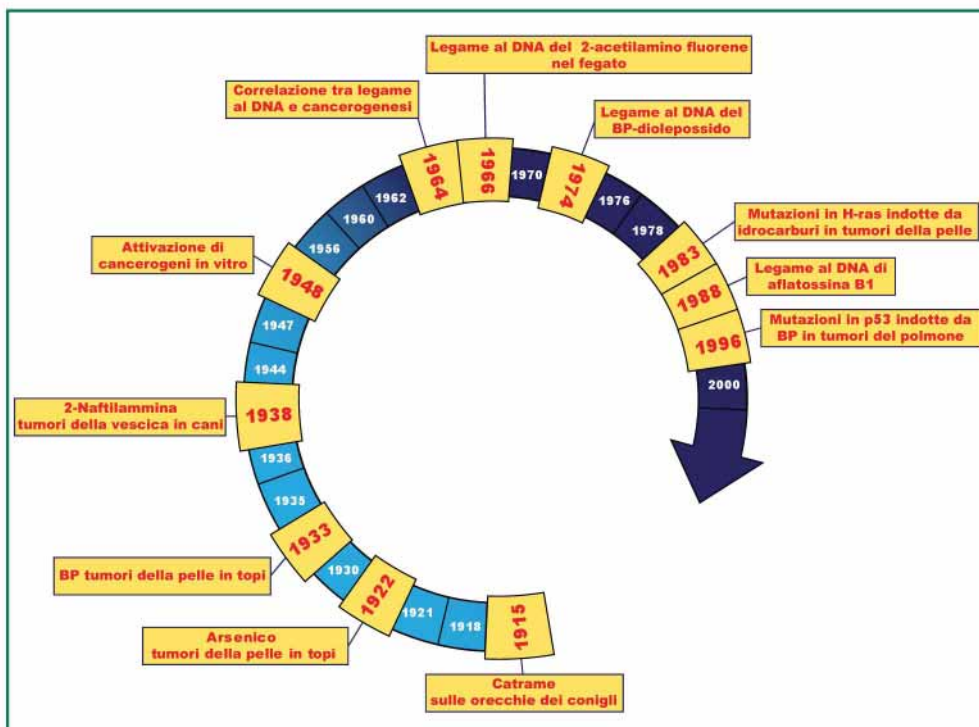
Presento una sorta di *excursus* sul problema del rischio associato alla presenza nell'ambiente di agenti mutageni e/o cancerogeni affrontandolo in maniera storica per fare capire come si siano evolute le conoscenze in questo settore. La sensazione comune a noi che viviamo nel mondo occidentale è che i tumori siano "il problema prioritario" di sanità pubblica. In realtà, se ci poniamo in una prospettiva più allargata, i tumori effettivamente non rappresentano una priorità sanitaria a livello mondiale. È sufficiente osservare le cause di mortalità pubblicate dall'Organizzazione Mondiale della Sanità nel 2003 (ma probabilmente le cifre attuali sono abbastanza simili) per capire che le priorità di salute pubblica sono altre, e tutta una serie di malattie (dalla diarrea alla malaria e alla tubercolosi) sono molto più frequenti di quanto non siano i tumori. Il primo tumore che compare in questa lista (Tabella 1) lo troviamo in nona posizione ed è il tumore del polmone e della trachea. Dobbiamo arrivare alla 15ma per trovare il tumore dello stomaco e alla 18ma per trovare il tumore del colon retto.

**Tabella 1** - Cause principali di morte nel mondo (Organizzazione Mondiale della Sanità, 2003)

Posizione	Cause	n. morti/10 <sup>3</sup>	Totale (%)
1	Cardiopatía ischemica	7.208	12,6
2	Malattie cerebrovascolari	5.509	9,8
4	HIV/AIDS	2.777	4,9
5	Broncopneumopatie cronico ostruttive	2.748	4,8
6	Malattie diarroiche	1.798	2,7
7	Tubercolosi	1.566	2,7
8	Malaria	1.272	2,2
9	Cancro del polmone/trachea/bronchi	1.243	2,2
10	Incidenti automobilistici	1.192	2,1
11	Malattie infantili	1.124	2,0
12	Lesioni involontarie	923	1,6
13	Cardiopatía ipertensiva	911	1,6
14	Suicidi	873	1,5
15	Cancro dello stomaco	850	1,5
16	Cirrosi epatica	786	1,4
17	Nefriti/nefrosi	677	1,2
18	Cancro del colon e del retto	622	1,1
19	Cancro del fegato	618	1,1
20	Morbillo	611	1,1

Se analizziamo le frequenze dei singoli tumori in zone diverse del mondo queste variano enormemente (come mostra la Tabella 2 riportata a pag. 64 da Crebelli). Per esempio, il tumore dell'esofago è chiaramente un problema di salute pubblica per la Francia, mentre non rappresenta un problema per Israele. In questo caso si pensa che un fattore eziologico importante sia la quantità di alcol ingerita. Il tumore naso-faringeo è un altro esempio di cancro che colpisce maggiormente le zone del Sud-Est asiatico, mentre è relativamente raro in Europa. Questo dato ci indica che sono i fattori di tipo geografico che modulano enormemente la frequenza di specifici tumori. Questa osservazione era nota da moltissimo tempo. L'esempio classico (citato da Riccardo Crebelli, Tabella 3, pag. 64) è rappresentato dall'alta incidenza di tumore allo stomaco dei giapponesi in madrepatria, che si abbassa drasticamente quando i giapponesi migrano negli Stati Uniti. Una volta insediati in California la popolazione giapponese assume lo spettro di tumori caratteristico della popolazione americana. Questo cambiamento di incidenza nei tipi tumorali nelle popolazioni migranti richiede di solito un tempo pari a una generazione.

La Figura 1 indica che le conoscenze scientifiche nell'ambito della cancerogenesi chimica sono basate su prove sperimentali che datano molto indietro nel tempo; tuttavia, la percezione sociale del rischio posto dalle sostanze cancerogene presenti nel nostro ambiente di vita ha richiesto molti anni. Ad esempio, la scoperta che spennellando le orecchie di un coniglio con una sostanza chimica



**Figura 1** - Progressi scientifici nel campo della cancerogenesi chimica: le tappe rilevanti del ventesimo secolo. BP: benzopirene

si era in grado di indurre dei tumori risale all'inizio del '900. Un altro esempio è quello dei tumori sulla pelle di topo indotti dall'esposizione degli animali a idrocarburi policiclici aromatici\*. Quindi dati sperimentali di cancerogenesi chimica sull'animale erano già presenti con evidenze solide all'inizio del secolo. Il passaggio successivo – a parte gli studi sulla vescica dei cani che ovviamente sono stati abbandonati come modello sperimentale per problemi etici – è stata la scoperta che le sostanze chimiche spesso non sono attive di per sé ma hanno bisogno di una attivazione metabolica per esercitare la loro tossicità. Dobbiamo arrivare molto più in là negli anni per ottenere delle indicazioni sui meccanismi responsabili della capacità delle sostanze chimiche di indurre tumori. All'inizio del secolo si pensava, per esempio, che il processo di tumorigenesi fosse dovuto a un'interazione della sostanza chimica con le proteine. Solamente dopo la scoperta del DNA si è capito che il passo iniziale del processo di tumorigenesi è l'interazione della sostanza chimica con il DNA. Un primo esempio in tal senso è stata la cancerogenesi epatica da 2-acetilaminofluorene, in cui è stata stabilita la correlazione tra la capacità della sostanza chimica di interagire con il DNA e il suo potenziale cancerogeno.

Dagli anni '70 in poi, l'attenzione si è concentrata sulla capacità delle sostanze chimiche di legarsi al DNA. Dobbiamo arrivare ancora più in là, negli anni '80, per capire quali fossero le conseguenze di queste interazioni col DNA: l'induzione di modificazioni delle basi\*, con conseguenti cambiamenti nella sequenza del DNA (mutazioni\*), o di aberrazioni cromosomiche che, se localizzate in geni importanti nel processo di proliferazione, sono associate alla formazione di tumori. In un momento successivo abbiamo capito che ci sono alcuni geni\* che sono particolarmente importanti nel processo di trasformazione neoplastica. Un esempio è il gene oncosoppressore p53\*. L'esposizione di cellule *in vitro* o di animali a un cancerogeno quale il benzo(a)pirene induce delle mutazioni in questo gene e queste identiche mutazioni compaiono nei tumori del polmone. Abbiamo quindi capito che il tipo di alterazione del genoma\* identificata in vari modelli sperimentali in seguito a esposizione ad agenti genotossici si ritrova poi anche nei tumori umani.

Le immagini riportate nella Figura 2 sono molto semplici e ricordano come è strutturato il DNA: il primo livello strutturale, il cromosoma\*, contiene il DNA con la sua doppia elica formata da basi complementari. Al momento della replicazione possono avvenire degli errori casuali perché alcune basi si possono accoppiare con altre sbagliate (ad esempio, l'appaiamento di una adenina con una guanina invece che con una timina). Al ciclo cellulare successivo questo mis-appaiamento produrrà un cambiamento di sequenza o mutazione. Il codice del DNA può essere paragonato ad un linguaggio: se noi consideriamo una tripletta\* con sequenza GAG, che in inglese vuol dire "scherzo", e la cambiamo in TAG, che vuol dire "etichetta", produciamo un cambiamento di significato della parola (Figura 3). Lo stesso fenomeno vale per la sequenza di aminoacidi\* di una proteina: la tripletta GAG codifica per l'acido glutammico ma se cambiamo la sequenza da GAG a TAG questo costituisce un segnale di "stop". È sufficiente quindi il cambiamento di una singola base per cambiare completamente il senso della sequenza e possiamo considerare il DNA come il nostro linguaggio cellulare.

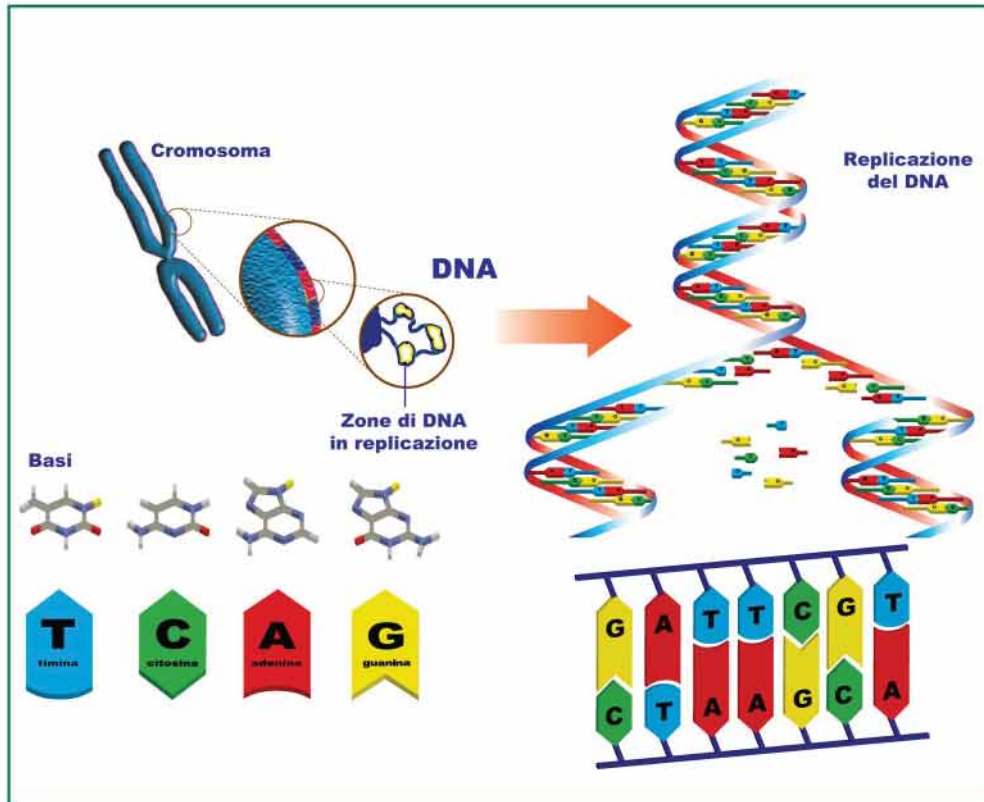


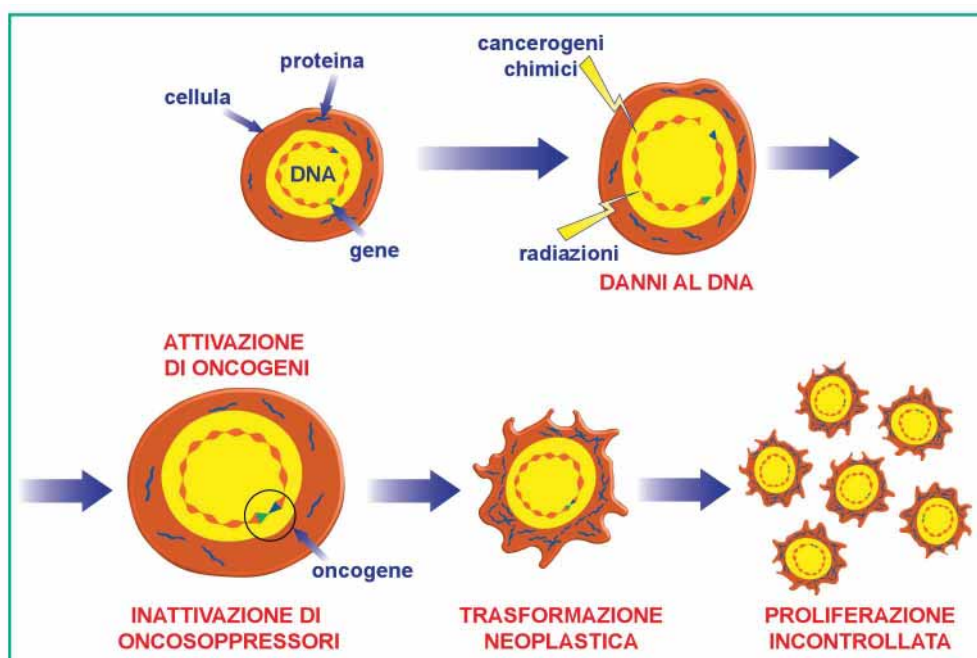
Figura 2 - Struttura e replicazione dell'informazione genetica



Figura 3 - La sequenza delle basi nel DNA rappresenta un codice simile al linguaggio



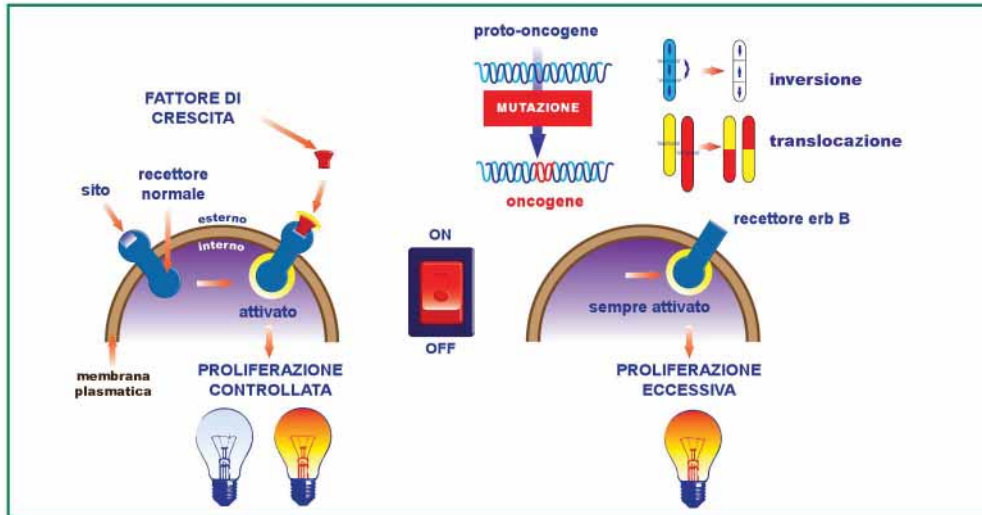
La Figura 4 cerca di rappresentare graficamente il processo di trasformazione neoplastica: un agente chimico o fisico che interagisce con il DNA e provoca un danno può modificare la sequenza del DNA e se questa modificazione avviene in geni importanti come i protooncogeni\* o gli oncosoppressori, può avere come conseguenza una proliferazione incontrollata. Quale esempio pratico possiamo immaginare una proteina che funziona da recettore\* sulla membrana della cellula (con una zona extra ed una intra-cellulare) che deve attivarsi in presenza di un fattore di



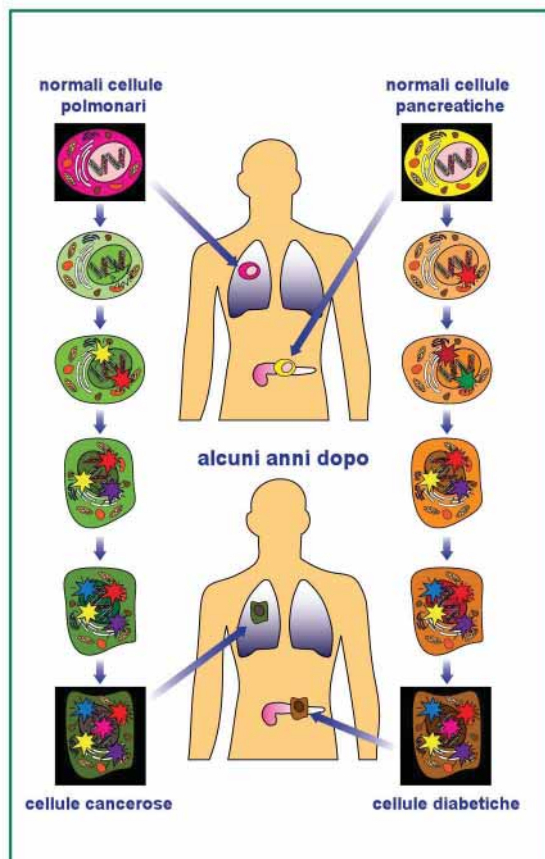
**Figura 4** - La trasformazione neoplastica indotta da cancerogeni chimici o fisici

crescita e disattivarsi in sua assenza. Funzionerà quindi come un interruttore della luce che si accende o si spegne dipendentemente dalla presenza o assenza del fattore di crescita. Immaginate che una mutazione, o un riarrangiamento cromosomico, porti all'eliminazione di una parte del recettore stesso (eliminazione della porzione esterna alla membrana): questo non sarà più in grado di spegnersi e una sua attivazione continuata porterà, se quella proteina è importante per esempio nel controllo della proliferazione, ad una proliferazione incontrollata (Figura 5). Quindi, questo è un esempio piuttosto semplice per spiegare ai ragazzi cosa significa modificare una proteina in maniera funzionale.

È bene tuttavia ricordare che un tumore non è il risultato di una singola mutazione e il processo di trasformazione neoplastica richiede la presenza di una serie di alterazioni genetiche nel genoma della stessa cellula che spesso avvengono nel corso di molti anni. Quindi i tumori si possono paragonare in un certo senso a delle malattie multi-fattoriali, e dovremmo evitare di inviare il messaggio che singole alterazioni genetiche dovute ad una sporadica esposizione a cancerogeni siano sufficienti a modificare in senso neoplastico i nostri organi (Figura 6).



**Figura 5** - Alterazioni nel controllo della proliferazione cellulare sono alla base del processo di trasformazione neoplastica



**Figura 6** - Un tumore è il risultato dell'accumulo di molte mutazioni

È stato detto che mutazioni nel DNA possono avvenire a ogni replicazione cellulare ed il nostro organismo può sopportare un certo tasso di errori. Dobbiamo tuttavia cercare di contenere le mutazioni aggiuntive che verranno introdotte nel nostro genoma in seguito all'esposizione a fattori esogeni. E qui entra in gioco la contaminazione ambientale. Sono presenti infatti nell'ambiente una serie di fattori che possono aumentare questo carico mutazionale. Possiamo dividere i fattori di rischio in fattori ambientali generici (contaminazione dell'aria, dell'acqua, ecc.) e in fattori individuali (quanto ci esponiamo al sole, cosa mangiamo, quanto fumiamo) (Figura 7).

Quali sono i meccanismi di protezione del nostro genoma dall'aggressione di agenti cancerogeni? È bene ricordare che molte sostanze chimiche vengono metabolizzate dal nostro organismo, in molti casi sono attivate, in altri sono detossificate. Quindi gli



Figura 7 - Fattori individuali di rischio: il nostro stile di vita

enzimi\* che eliminano i metaboliti\* dannosi (detossificanti) fanno parte dei sistemi di protezione del nostro organismo. Se i sistemi di detossificazione sono saturati abbiamo un ulteriore baluardo contro possibili danni indotti nel nostro genoma dall'esposizione a cancerogeni chimici: i sistemi di riparazione dei danni al nostro DNA. Infatti le lesioni sul DNA possono essere rimosse e il rischio associato a un danno persistente può essere eliminato (come ben illustrato dall'intervento di Eugenia Dogliotti). È chiaro tuttavia che questi sistemi di protezione non sono infallibili ed esposizioni ripetute a cancerogeni chimici creeranno un accumulo di danno e successive mutazioni che

potrebbero risultare in un aumentato rischio di insorgenza dei tumori.

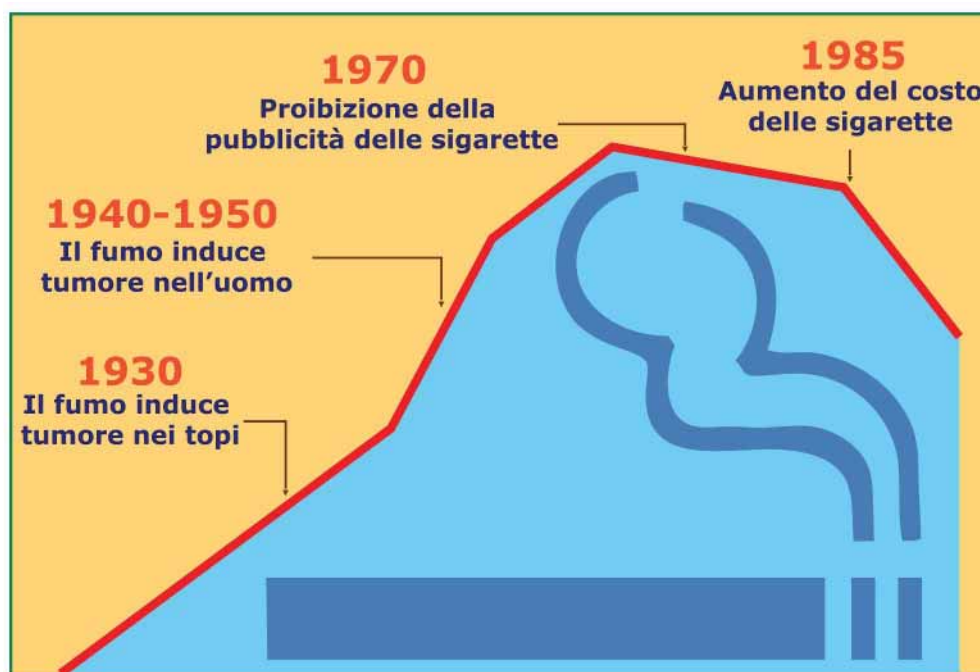
A questo punto abbiamo il problema più difficile da risolvere: cercare di capire quanto pesino i fattori citati, considerati nel loro insieme, sul rischio di cancro. Il fattore genetico, cioè la suscettibilità ereditaria ai tumori, rappresenta una quota molto bassa e i tumori ereditari, in totale, probabilmente non raggiungono il 5% dei tumori. Lo studio fondamentale per capire quale fosse la quota strettamente genetica nei tumori è stato eseguito su gemelli monozigoti\* e dizigoti nei Paesi nordici d'Europa dove sono stati analizzati i registri di circa 45.000 gemelli ed è stata determinata l'incidenza dei tumori in 28 siti. Se uno di due gemelli omozigoti è affetto da tumore, la probabilità che il fratello abbia lo stesso tumore è ristretta a un piccolo gruppo di tumori (prostata, colon retto e seno) per i quali può essere quindi stabilita una quota di tipo ereditario. Purtroppo conosciamo solamente parzialmente quali siano i geni importanti in questi tumori. Per il tumore del colon retto, per esempio, sono stati identificati alcuni geni responsabili della malattia, mentre per il tumore al seno se ne conoscono solamente due. Per tutti gli altri tipi di tumore non c'è nessun aumento di rischio su basi strettamente genetiche e lo studio porta a concludere che la parte ambientale è la componente principale nel cancro umano.

Se leggiamo di nuovo le statistiche riportate da Riccardo Crebelli (Tabella 4, pag. 65) osserviamo che il maggior fattore di rischio di cancro risulta essere il fumo di tabacco. Seguono poi le cause legate alla dieta e "infezioni, parassiti, batteri e virus" che sebbene numericamente importanti riguardano i Paesi in via di sviluppo ma non i Paesi occidentali. Le conclusioni del principale studio sul rischio di cancro associato al fumo di sigaretta, svolto ormai decine di anni fa arruolando i medici del Servizio Sanitario inglese, indicano che il rischio relativo di tumore aumenta in maniera considerevole mano a mano che aumenta il numero di sigarette fumate. Uno studio analogo eseguito negli Stati Uniti fornisce risultati praticamente identici, senza alcuna differenza di incidenza tra uomini e donne. Possiamo concludere che l'aumento di rischio di tumore in funzione del numero di sigarette fumate riguarda tutto il mondo, sia uomini sia donne (Tabella 2, fonte: IARC, 1986).

**Tabella 2** - Rischio relativo di tumore del polmone in uomini e donne in funzione del numero di sigarette fumate (IARC, 1986)

Popolazione	Uomini		Donne	
	Sigarette/die	RR	Sigarette/die	RR
Medici UK	0	1,00	0	1,00
	1-14	7,80	1-14	1,28
	15-24	12,70	15-24	6,41
	>25	25,10	>25	29,71
Veterani USA	0	1,00		
	1-9	3,89		
	10-20	9,63		
	21-39	16,70		
	>40	23,40		

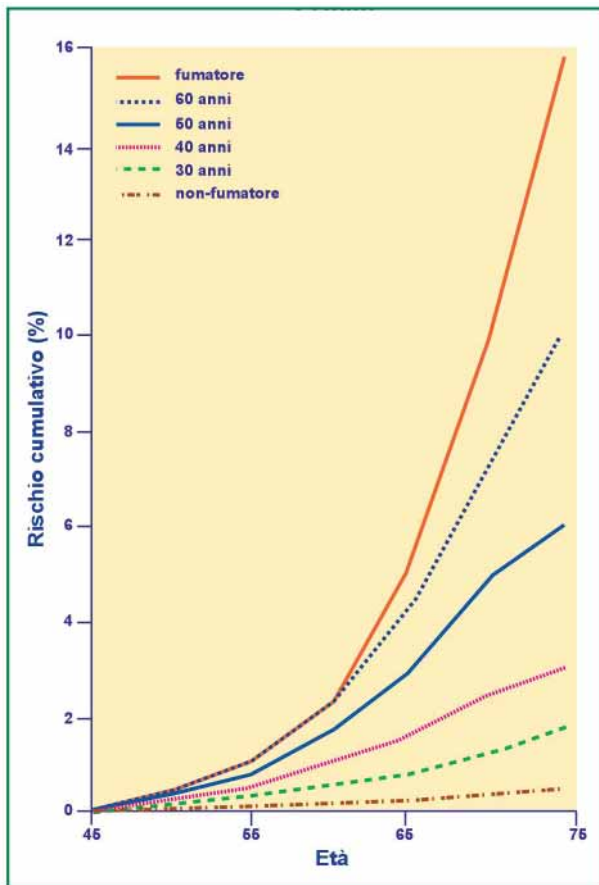
La curva sul consumo di sigarette/persona/anno (Figura 8) è ricca di informazioni: indica che il passaggio delle informazioni, cioè da quando noi sappiamo che una sostanza è cancerogena – induzione di tumore nei topi nel 1930, induzione nell'uomo negli anni 1940-50 – richiede una quantità enorme di tempo per modificare i comportamenti sociali. Abbiamo le informazioni necessarie ma prima di diminuire il consumo di sigarette attraverso varie misure legislative – la proibizione della pubblicità delle sigarette nel 1970 e l'aumento del costo delle sigarette nel 1985 – ci sono voluti quarant'anni. Dunque, in parte le informazioni scientifiche non sono recepite dalle autorità competenti o, se arrivano, non sono



**Figura 8** - Variazioni nel consumo medio annuo di sigarette nel periodo compreso tra il 1930 e il 1985

accettate socialmente. Credo sia molto importante far capire che il passaggio dall'informazione scientifica alla modificazione del comportamento è una problematica che riguarda più i sociologi che gli scienziati.

Se osserviamo l'aumento di rischio cumulativo di tumore in funzione del numero di sigarette fumate (Figura 9), ci renderemo conto che è fondamentale smettere di fumare. Il rischio scende anche se si smette di fumare a sessant'anni. Un altro dato molto importante è quello relativo al momento in cui si comincia a fumare.



**Figura 9** - Rischio cumulativo di tumori in fumatori in relazione all'età nella quale si smette fumare

Dati epidemiologici indicano che il rischio aumenta tantissimo quando si comincia a fumare intorno ai 14-15 anni. Il messaggio è rivolto ai giovani e riflette la base scientifica della formazione del tumore, cioè che l'insorgenza dipende da una serie di eventi mutazionali che devono accumularsi nelle cellule dei nostri organi. Non basta quindi una singola mutazione ma è l'accumulo di queste a portare un aumentato rischio. È chiaro che se a un certo punto si smette di fumare il rischio diminuisce, o perlomeno non aumenta. Perché il fumo è un fattore di rischio cancerogeno così importante? La spiegazione è nell'analisi chimica delle sostanze contenute nelle sigarette: sono presenti i più noti cancerogeni, cioè quelle sostanze studiate all'inizio del secolo scorso: benzo(a)pirene, nitrosamine, benzene, cromo, cadmio. Una somma, quindi, di piccole quantità di sostanze chimiche molto pericolose. Una serie di alterazioni prodotte nelle cellule

– che non sono solo quelle del polmone, perché il fumo è associato a uno spettro di tumori molto più ampio – porta modifiche del DNA che si trasformano in mutazioni, attivazione di oncogeni\* e alla fine in tumore.

Se prendiamo come esempio l'alcol, un altro agente cancerogeno molto importante (come ha già mostrato Riccardo Crebelli, Tabella 4 a pag. 65) esiste invece una discordanza tra i dati sperimentali in modelli murini e i dati epidemiologici su popolazioni umane. Nei modelli animali l'esposizione ad alcol non è sufficiente a indurre tumori, mentre i dati epidemiologici nell'uomo indicano un'associazione molto forte con insorgenza di tumori in forti bevitori, ad esempio l'incidenza di tumore all'esofago in una regione della Francia dove viene bevuto molto Calvados



(come riportato da Crebelli in Tabella 2, pag. 64). Questo significa probabilmente che il rischio di tumore associato ad assunzione di alcol dipende dal suo possibile sommarsi ad altre esposizioni (per esempio infezioni di tipo virale). Un esempio di interazione fra sostanze chimiche che portano ad un aumentato rischio di tumore è rappresentato dall'interazione tra alcol e tabacco sul rischio di tumore dell'esofago: se un bevitore-non fumatore ha un rischio 10 di avere un tumore, questo rischio non si somma ma aumenta esponenzialmente in un bevitore-fumatore (v. Crebelli, Figura 2, pag. 67).

E arriviamo alla dieta. Mentre per il fumo di tabacco il discorso è relativamente semplice, perché tra dati molecolari, osservazioni sugli animali e dati epidemiologici non c'è assolutamente nessuna discrepanza nell'assegnare al fumo l'etichetta di cancerogeno, per quanto riguarda la dieta il discorso è assai più complicato. I possibili meccanismi alla base del rischio di tumore associato alla dieta sono la formazione di cancerogeni durante la cottura o la conservazione di alimenti, l'esposizione a contaminanti presenti nei cibi e l'effetto di micronutrienti e altri componenti della dieta, effetti indiretti dell'obesità o della denutrizione (v. Crebelli, Tabella 5, pag. 66). Vi parlerò soltanto dei primi due perché sull'effetto protettivo di micronutrienti e di altri componenti della dieta la letteratura è molto vaga.

Durante la cottura degli alimenti è stato dimostrato che si formano dei cancerogeni. È certo, per esempio, che la bistecca o il pane, se bruciati, producono una serie di composti, le amine\* eterocicliche, che se iniettate in modelli animali sono in grado di indurre tumori. È inoltre noto che queste sostanze sono in grado di formare degli addotti\* sul DNA ed indurre mutazioni. Quindi molte sono le evidenze di tipo sperimentale che indicano di fatto che queste sostanze si possono classificare come cancerogeni. È molto meno chiaro se il rischio di tumore associato all'ingestione di queste sostanze sia presente anche nell'uomo. Infatti manca un'evidenza epidemiologica convincente che dimostri che un elevato consumo di carne abbrustolita sia associato a un aumentato rischio di tumore. È possibile che la spiegazione di questi dati negativi sia in una combinazione di un rischio modesto associato a questa usanza e alla necessità di grandi numeri di soggetti da analizzare per individuare l'aumentato rischio di tumori.

Certo è invece il rischio associato alla presenza di contaminanti in grado di indurre tumori nelle derrate alimentari. Il fenomeno riguarda essenzialmente alcune aree del mondo, quali l'Africa sub-sahariana e una parte della Cina. Questa maggior incidenza di tumori in particolari aree geografiche dipende in larga parte dalle condizioni in cui le granaglie vengono conservate: in presenza di grande umidità vi è una produzione di funghi, in particolare dell'*Aspergillus flavus* che produce una micotossina\*, l'aflatossina\* B1. Questa tossina\* aumenta enormemente l'incidenza del carcinoma del fegato nelle aree del mondo dove è presente in maniera endemica il virus HBV\*. Anche in questo caso evidenze di tipo sperimentale ci indicano che l'aflatossina B1 è in grado di produrre un addotto al DNA, che a sua volta è in grado di indurre delle mutazioni, che infine ritroviamo nei tumori presenti in queste zone dell'Africa e della Cina. Si tratta di un problema molto ben studiato dal punto di vista sia sperimentale sia epidemiologico e che per il momento non ci riguarda molto direttamente, anche se sporadicamente vi sono segnali di contaminazioni di questo tipo di tossine anche nel grano che arriva a casa nostra. Per un approfondimento sulle micotossine si rimanda al testo di Marina Miraglia *et al.*

Studi di popolazione per identificare il fattore protettivo dell'aggiunta di vitamine alla dieta hanno dato risultati contraddittori, in alcuni casi addirittura avversi. Quindi ritengo che troppo poco sia noto su questo argomento per trarre conclusioni certe. Un discorso simile riguarda l'obesità. Sembrano essere tutti d'accordo che l'obesità sia un fattore di rischio (se si mettono a dieta ristretta gli animali il numero dei tumori diminuisce in maniera drastica). Quindi una persona denutrita avrà un rischio bassissimo di essere affetto da un tumore, mentre persone molto grasse avranno un rischio maggiore, ma in tutte le situazioni di peso non estreme i fattori di rischio sono assolutamente non definiti.

L'ultimo aspetto che vorrei affrontare è quello dell'ambiente di lavoro (v. Crebelli, Tabella 8, pag. 69). Con popolazioni di lavoratori molto piccole è stato relativamente facile, per mezzo di tecniche epidemiologiche, identificare il rischio cancerogeno associato a particolari lavorazioni. In molti di questi casi, purtroppo, l'identificazione del rischio cancerogeno è stato fatto sulla vita dei lavoratori e non attraverso l'uso di modelli sperimentali: solo a posteriori, infatti, si è verificato che alcune sostanze erano in grado di indurre tumori. Molte di queste informazioni erano tuttavia presenti già all'inizio del secolo, ma ci si è resi conto del rischio soltanto molto tempo dopo (ad esempio, l'azione cancerogena dell'arsenico e della pece in modelli animali era nota fin dagli anni '20 del secolo scorso).

Per concludere, i fattori ambientali sembrano essere i maggiori responsabili della gran parte dei tumori umani. Il tabacco, l'alcol e i fattori correlati alla dieta hanno un ruolo prevalente mentre per altri fattori quantificare il rischio è molto più difficile. Ovviamente la nostra società si è organizzata per proteggere la salute dei cittadini attraverso degli enti di sanità pubblica che valutano i rischi associati all'introduzione nell'ambiente in cui viviamo di nuove sostanze chimiche. È fondamentale tuttavia che ognuno di noi si tenga informato su quali siano i rischi ai quali va incontro nel fare le proprie scelte individuali relative allo stile di vita. Il messaggio finale, quindi, è che è sempre meglio prevenire che curare.

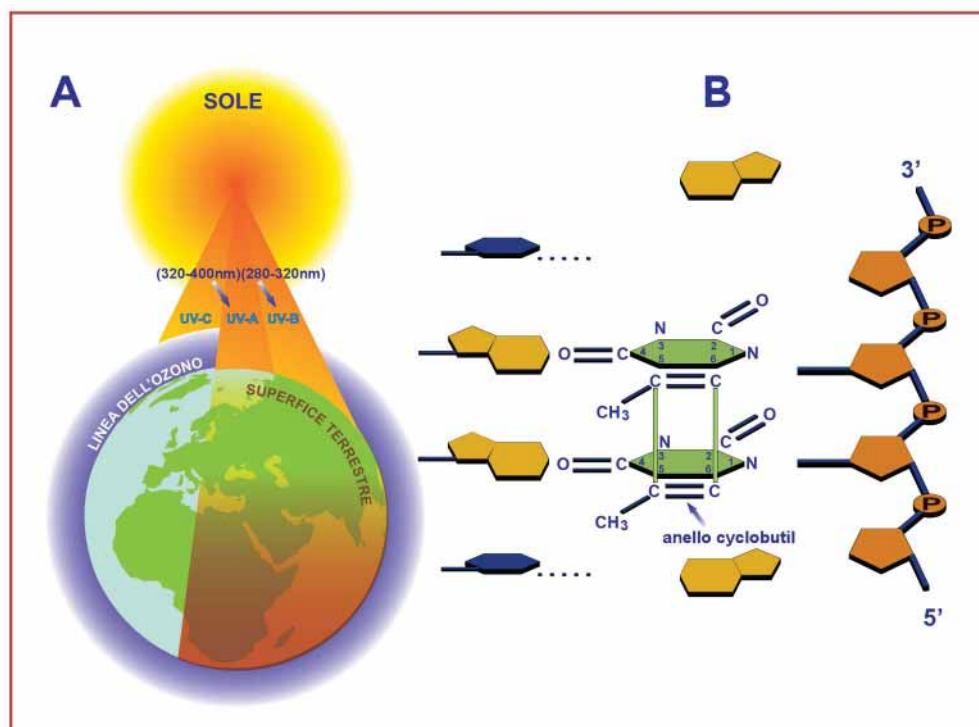


## DANNO AL DNA E SUSCETTIBILITÀ INTERINDIVIDUALE

Eugenia Dogliotti

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Il danno al DNA può essere la conseguenza di eventi spontanei o di esposizioni di tipo ambientale. I cancerogeni ambientali e/o i loro metaboliti\* (come hanno già spiegato Riccardo Crebelli e Margherita Bignami) causano mutazioni\* attraverso la formazione di addotti\* covalenti con il DNA che aumentano la probabilità di errori durante il processo di replicazione. Un altro esempio sono le radiazioni UVB (280-320 nm) e UVA (320-400 nm) della luce solare (Figura 1 A) che inducono danno del DNA e sono associate agli effetti dannosi delle radiazioni solari sulla pelle. Le radiazioni UVB sono quelle più fortemente assorbite dal DNA dove inducono la formazione di due classi principali di lesioni delle basi pirimidiniche: i dimeri di timina (Figura 1 B) e i cosiddetti 6-4 fotoprodotti. Le cellule sono però provviste di sistemi di controllo dell'integrità del DNA che rimuovono efficientemente le lesioni indotte



**Figura 1** - Danno al DNA indotto da luce UV. In A sono indicati le lunghezze d'onda delle radiazioni UV-A e UV-B, le radiazioni UV-C sono assorbite dall'atmosfera. In B le lesioni delle basi pirimidiniche

da cancerogeni ambientali. Le cellule della pelle rimuovono le lesioni indotte da luce UV attraverso un sistema di riparazione noto come *nucleotide\* excision repair* (NER) che è altamente conservato negli eucarioti\*. Questo è un processo che prevede la rimozione del filamento di DNA danneggiato e la risintesi di un filamento integro utilizzando come stampo il filamento di DNA complementare (Figura 2). Se il danno non viene rimosso efficientemente prima della replicazione del DNA la sua persistenza aumenta la probabilità di induzione di mutazioni. In particolare, il danno da luce UV induce specifiche mutazioni: transizioni C>T e CC>TT in sequenze di pirimidine adiacenti che sono riconosciute come impronta digitale (*fingerprint\**) della mutagenesi\* da luce UV (Figura 3). Pertanto queste sequenze sono spesso *hot spot* (punti caldi) di danno e mutazioni da luce UV. Una forte evidenza sperimentale ed epidemiologica associa l'esposizione a radiazioni UV con lo sviluppo di cancro della pelle di tipo non melanocitico. L'analisi delle mutazioni del gene oncosoppressore

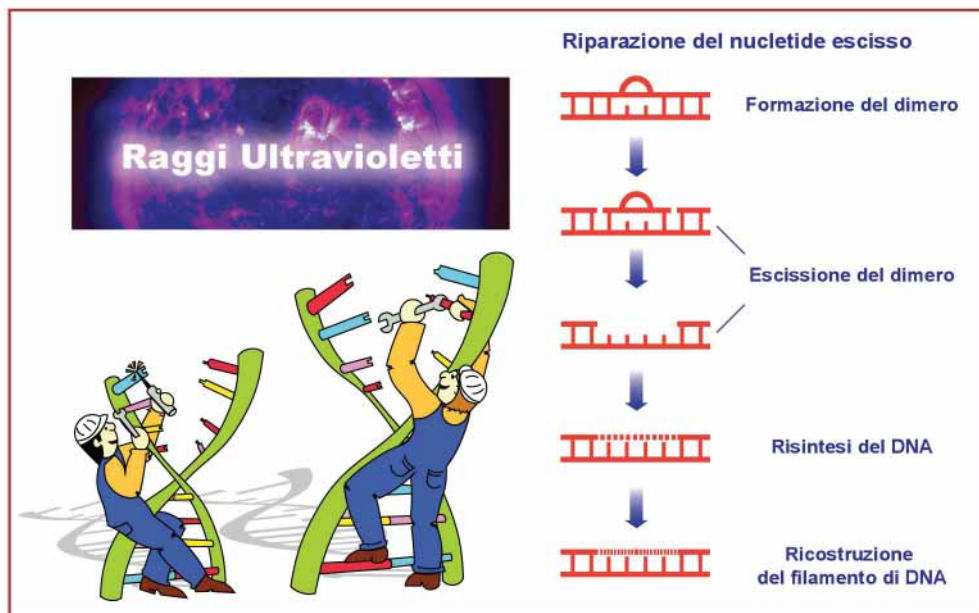


Figura 2 - La riparazione del DNA

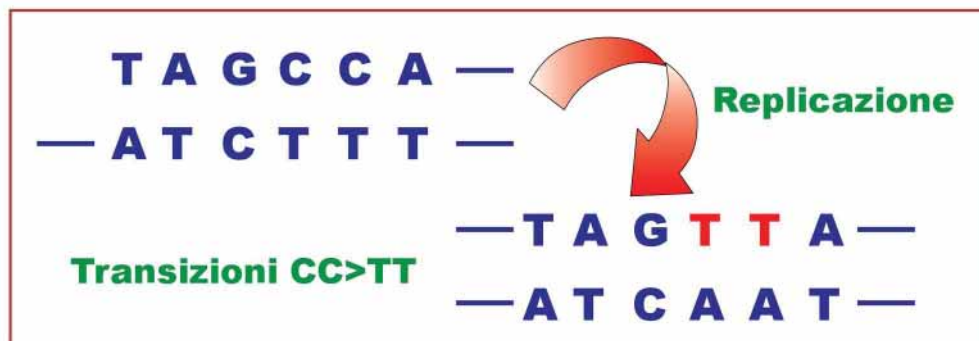
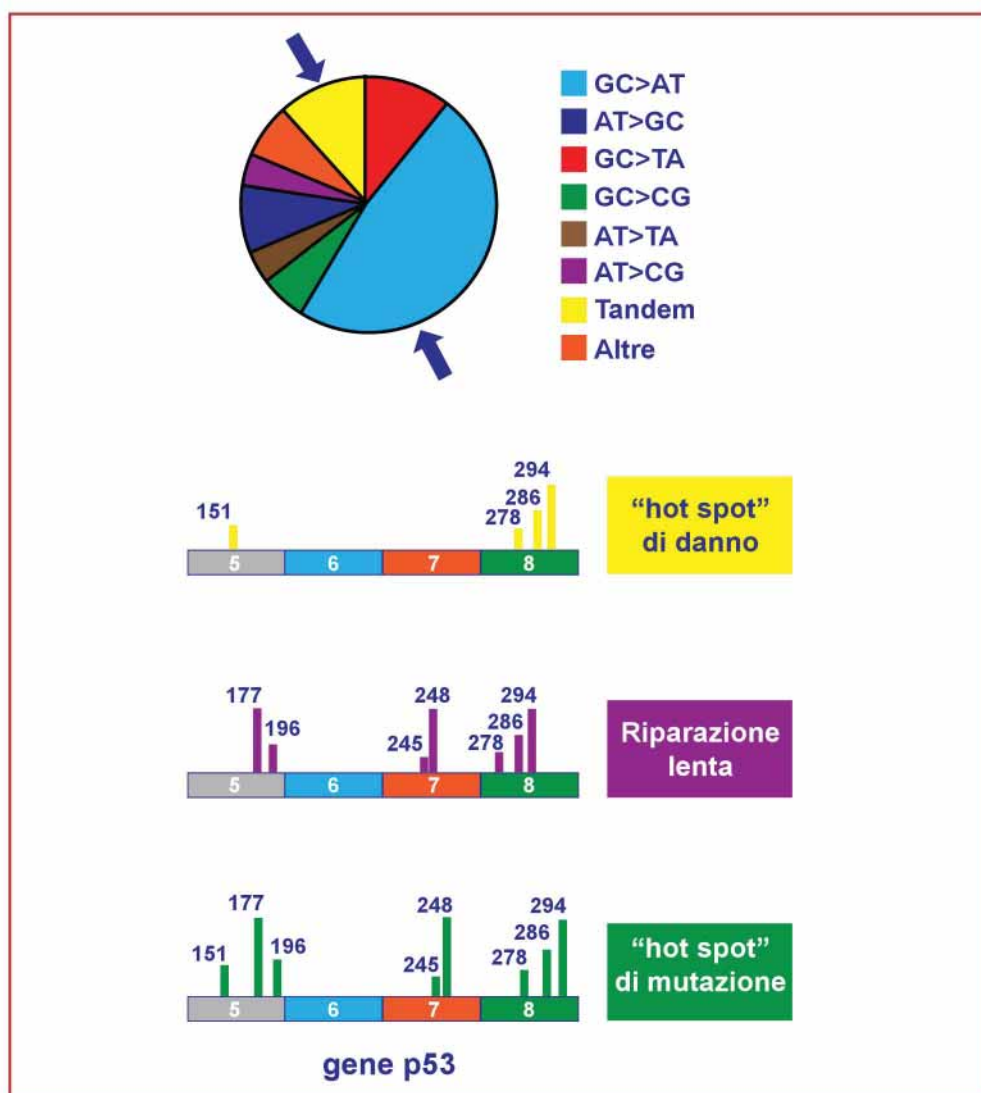


Figura 3 - Mutazioni specifiche indotte da luce UV

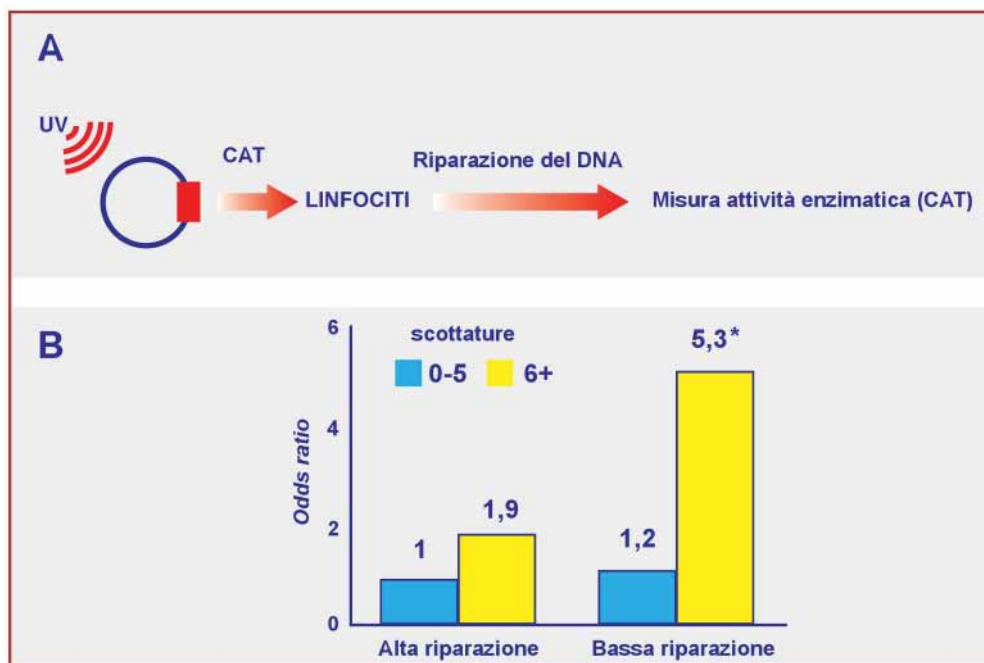
p53\*, frequentemente mutato in questo tipo di cancro, ha permesso di stabilire un'associazione diretta tra esposizione a radiazioni solari e insorgenza del tumore. Lo spettro è infatti caratterizzato da transizioni C>T localizzate a siti dipirimidinici e mutazioni tandem CC>TT (Figura 4). Entrambi i tipi di mutazione sono specifici delle radiazioni UV. Sebbene il primo tipo di mutazioni sia frequente anche in altre forme di cancro, le mutazioni tandem sono specifiche dei tumori della pelle. Le mutazioni del gene p53 nei tumori della pelle sono localizzate in specifici *hot spot* di mutazione che corrispondono ai siti dove le lesioni indotte da luce UV sono indotte con maggiore frequenza (*hot spot* di danno) e riparate più lentamente (Figura 4).



**Figura 4** - Mutazioni da luce UV nel gene tumorale p53. Il grafico a torta presenta la frequenza dei diversi tipi di mutazioni identificate. Le frecce indicano le mutazioni specifiche da luce UV. I codoni del gene p53 che sono *hot spot* di danno, di riparazione lenta o di mutazione sono indicati con un numero posizionato sopra la barra che rappresenta gli esoni del gene p53 analizzati (esoni 5, 6, 7 e 8)

L'importanza della riparazione del DNA nel prevenire l'insorgenza di tumori è dimostrata dall'alta frequenza di tumori della pelle (2000 volte superiore rispetto alla popolazione generale) dei soggetti affetti da una rara malattia ereditaria, con difetti nel NER, lo *Xeroderma Pigmentosum* (XP). I bambini affetti da questa sindrome sono noti tristemente come i "bambini della luna" perché a causa dell'ipersensibilità alle radiazioni solari non possono esporsi alla luce del giorno. È interessante ricordare che lo spettro di mutazioni del gene p53 in tumori della pelle di pazienti XP è caratterizzato da una frequenza particolarmente elevata di mutazioni tandem CC>TT, il *fingerprint* dell'esposizione a radiazioni UV.

La variabilità che esiste tra i singoli individui nella capacità di riparare i danni da luce UV ha un ruolo nel rischio di cancro della pelle in termini di popolazione in generale? Studi sono stati condotti su soggetti affetti da epiteloma basocellulare\* (basalioma) con l'obiettivo di verificare l'ipotesi che una diminuita capacità di riparazione possa essere associata ad un maggior rischio di cancro della pelle (Wei Q, Matanoski GM *et al.*, 1993; D'Errico M, Calcagnile A *et al.*, 1999). La capacità di riparazione del DNA è stata misurata in linfociti periferici (Figura 5 A) utilizzando come sonda un vettore\* di DNA ricombinante\* che presenta un gene\* che codifica per un'attività enzimatica\* (cloramfenicolo acetiltransferasi, CAT, nell'esempio). Il vettore è stato irraggiato con luce UV, introdotto in linfociti isolati dai soggetti in studio e la capacità di riparazione è stata valutata attraverso la misurazione dell'attività enzimatica del gene reporter\*. L'attività enzimatica sarà più elevata là dove il danno da luce UV è stato riparato con maggiore efficienza. I risultati hanno mostrato che una minore capacità di riparazione del danno da luce UV è associata ad un più elevato rischio di basalioma nei soggetti giovani (età



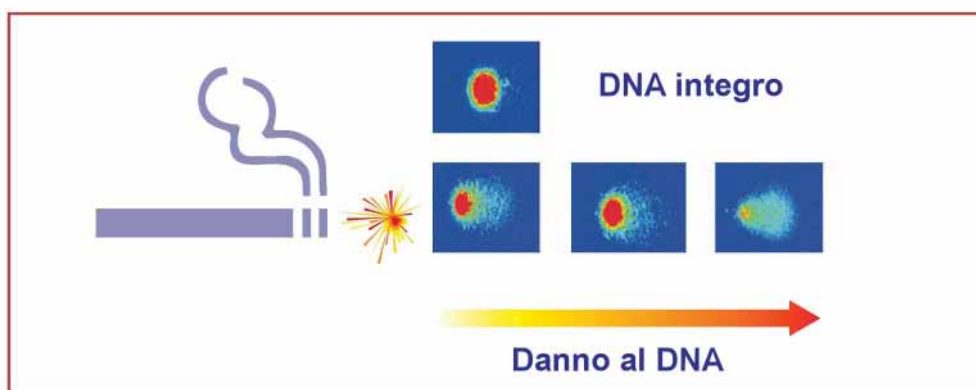
**Figura 5** - Capacità di riparazione del danno da luce UV valutata misurando l'attività dell'enzima cloramfenicolo acetil-transferasi (CAT) in linfociti umani (A). Una ridotta capacità di riparazione e precedenti episodi di scottature solari sono associati a un maggior rischio di basalioma (B)

inferiore ai 40 anni). Inoltre è stato osservato che soggetti con ridotta capacità di riparazione e storia di scottature solari hanno un rischio di basalioma 5 volte più elevato dei gruppi di controllo (Figura 5 B). Molti studi epidemiologici confermano che l'esposizione a luce solare, soprattutto in adolescenti, e il numero di scottature che si sono subite in età adolescenziale sono un fattore di rischio importantissimo per l'insorgenza di tumori cutanei. Quindi, una corretta prevenzione, che può essere attuata con l'informazione nelle scuole, è molto importante. Sappiamo che solo l'1% delle visite che i pediatri compiono sono di tipo dermatologico. Non siamo culturalmente abituati a considerare i problemi dermatologici come problemi da tenere sotto stretto controllo.

L'altro esempio in cui il percorso lesione-tumore è molto stringente riguarda il fumo di sigaretta, come hanno spiegato Riccardo Crebelli e Margherita Bignami. Nel fumo di sigaretta ci sono circa 4.000 agenti chimici di cui 70 sono cancerogeni. Il benzo(a)pirene è un noto cancerogeno presente nel fumo di sigaretta. Il fumo di sigaretta è responsabile dell'87% delle morti per tumore al polmone, ma non dimentichiamo che è anche causa di tumori in altre sedi, nonché di malattie polmonari croniche, malattie cardiovascolari, infarto e cataratta.

In questo caso l'esposizione al cancerogeno non avverrebbe senza la dipendenza da nicotina - che è il problema chiave nel caso del fumo di sigaretta. È chiaro che se noi non facessimo il gesto rituale di portarci la sigaretta alla bocca ripetutamente durante la giornata, gesto dovuto al fatto che si è sviluppata una dipendenza da nicotina, non verremmo mai esposti al cancerogeno e quindi ad un aumentato rischio di tumore al polmone.

Apriamo una piccola finestra su uno studio di laboratorio. Quando, molti anni fa, cominciai a frequentare il laboratorio di mutagenesi di questo Istituto per la tesi sperimentale, la prima domanda che mi feci fu la seguente: è vero che gli agenti cancerogeni interagiscono con il DNA, ma lo si può vedere? In realtà lo si può vedere con molte tecniche ma il saggio detto delle comete è forse quello che più offre una immediata visualizzazione del danno presente nel DNA. Le cellule (per esempio i nostri linfociti periferici) vengono imbrigliate in un cuscinetto di agarosio, sottoposte al campo elettrico di un apparecchio di elettroforesi\* e poi visualizzate al microscopio (Figura 6). Le cellule con DNA integro mostrano la struttura intatta del nucleo, ma nel momento in cui il DNA presenta rotture della catena fosfodiesterica il

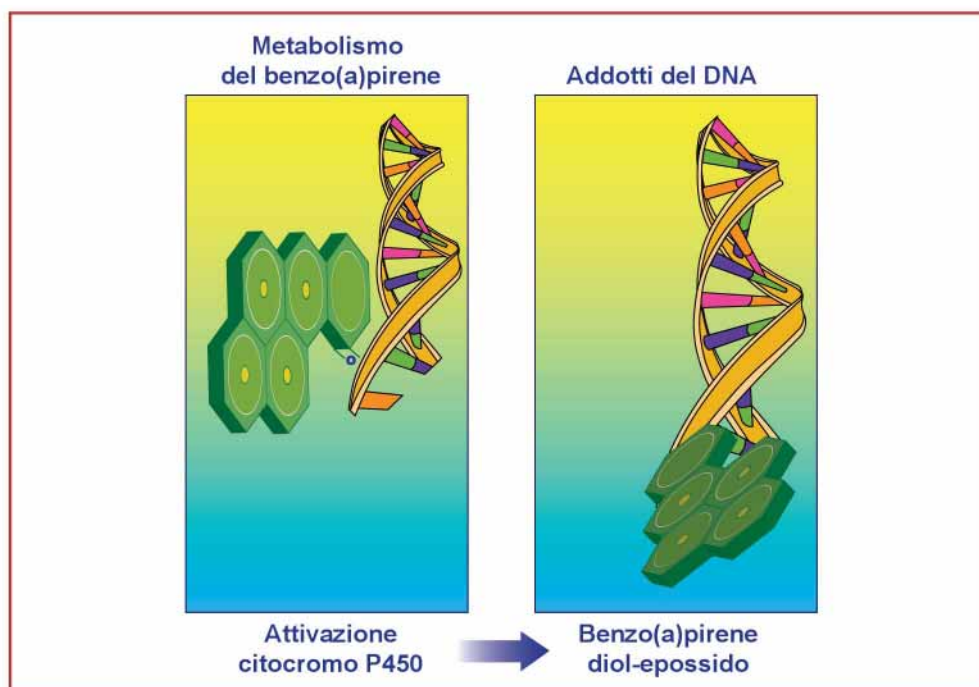


**Figura 6** - Il saggio delle comete. Immagini al microscopio di cellule con DNA integro e con lesioni. Una frequenza più elevata di rottura è stata osservata in linfociti, cellule della bocca e cellule uroteriali di fumatori rispetto a non fumatori

DNA si srotola, fuoriesce dal nucleo e la cellula assume l'aspetto di una cometa. La lunghezza e intensità della cometa è misura del danno presente. Man mano che il livello di danno aumenta osserviamo che nella testa della cometa non c'è quasi più DNA mentre è tutto nella coda, dimostrando che è fortemente danneggiato. Diversi studi dimostrano che i linfociti, le cellule della bocca e le cellule uroteliali di fumatori presentano una frequenza più elevata di rotture del DNA rispetto a non fumatori.

Come sistema di protezione dal danno al DNA indotto da cancerogeni ambientali, la cellula non ha soltanto la riparazione del DNA, ma ha anche un sistema di inattivazione delle sostanze dannose. Questo è il complesso multiproteico noto come citocromo P450\* caratterizzato da due tipi di enzimi\*: gli enzimi di fase 1 e gli enzimi di fase 2. Gli enzimi di fase 1 aggiungono un atomo di ossigeno al cancerogeno rendendolo più solubile in acqua e quindi più facilmente eliminabile. Gli enzimi di fase 2 continuano questo processo rendendo il cancerogeno ancora più solubile in acqua. Si tratta di un efficiente processo di detossificazione; tuttavia sfortunatamente, quando questi enzimi aggiungono un atomo di ossigeno al cancerogeno questo va alla ricerca di elettroni diventando estremamente reattivo con il DNA. Pertanto, anche se la sua formazione e la sua persistenza nella cellula possono essere limitate nel tempo è comunque veramente pericoloso.

Un esempio del ruolo giocato dal metabolismo è fornito proprio dal benzo(a)pirene, un pre-cancerogeno di per sé inerte che nel momento in cui viene bioattivato diventa un cancerogeno che può interagire con il DNA (Figura 7). Fortunatamente, tuttavia, gli enzimi di fase 2 sono presenti e pronti a detossificare. L'equilibrio tra il tempo di formazione del reattivo intermedio e la sua detossificazione determina la probabilità di interazione con il DNA.

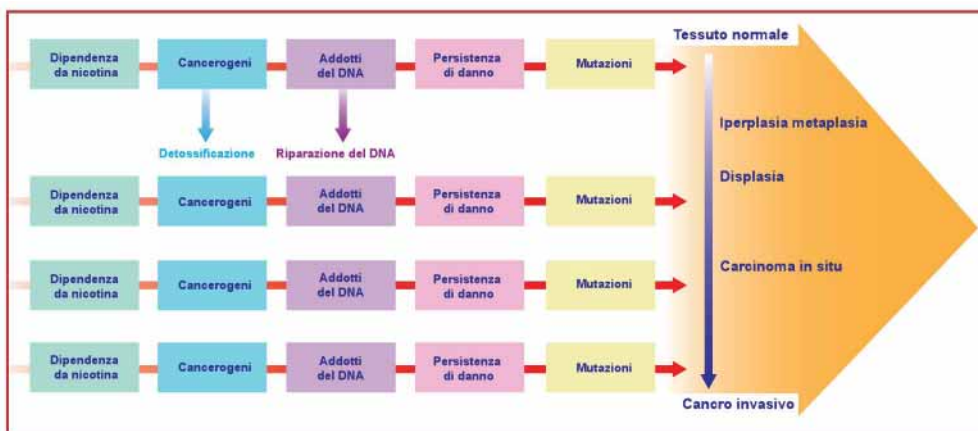


**Figura 7** - L'attivazione metabolica di un pre-cancerogeno e interazione di questo con il DNA



Vi ho già illustrato l'esempio di un cancerogeno ambientale che induce mutazioni specifiche, la luce UV. Anche il benzo(a)pirene induce mutazioni specifiche diverse da quelle indotte da luce UV. Il *fingerprint* del benzo(a)pirene è l'induzione di traversioni G>T. Se prendiamo in considerazione il gene tumorale p53 e andiamo ad analizzare le mutazioni nei tumori del polmone, innanzitutto la frequenza di mutazione è significativamente più elevata nelle cellule tumorali di fumatori rispetto a quelle di non fumatori e il tipo di mutazioni caratteristico è del tipo G>T, come rilevato in sistemi cellulari *in vitro*. Queste mutazioni sono presenti in specifiche zone del gene p53 e di nuovo c'è una associazione fortissima tra la posizione in cui viene accumulato il danno e la posizione del DNA in cui si accumulano le mutazioni. Questa prova scientifica è stata usata con gran successo dalla Corte di Giustizia degli Stati Uniti, dove molti sono i casi di risarcimento a forti fumatori, in quanto è riconosciuto un nesso causale tra tumore del polmone ed esposizione al fumo di sigaretta.

La Figura 8 ricorda però un concetto molto importante, già indicato da Riccardo Crebelli e Margherita Bignami, e cioè che per lo sviluppo di un tumore sono richieste più mutazioni in geni critici. Nel caso del tumore al polmone gli *step* significativi sono: i) dipendenza da nicotina, ii) assunzione del cancerogeno, iii) formazione di addotti del DNA, iv) persistenza del danno al DNA e, v) induzione di mutazioni in geni critici nel processo di cancerogenesi. La detossificazione del cancerogeno e la riparazione del DNA sono importanti fattori modulatori della probabilità di eventi mutazionali. Più eventi mutazionali sono richiesti per trasformare il tessuto normale in tessuto tumorale.



**Figura 8** - La tumorigenesi è un processo *multi-step*

Perché non tutti i fumatori sviluppano il cancro, ma solo una piccola parte di essi? Questa è un'osservazione che sento fare più volte, quando parlo con persone non del mio settore. Viene spesso portato l'esempio del nonno ultracentenario, fortissimo fumatore che ha vissuto benissimo e a lungo. Qui interviene la suscettibilità interindividuale. La variabilità interindividuale è determinata dal fatto che nel nostro DNA esistono dei polimorfismi che sono delle piccole variazioni nella sequenza del DNA che non hanno conseguenze fenotipiche. Avvengono con una frequenza superiore all'1%, da qui la definizione di polimorfismi, ma se si verificano in geni importanti che controllano la risposta al danno al DNA, alterandone la funzione, la risposta al cancerogeno può essere diversa, a parità di esposizione e quindi di danno indotto sul DNA.



Ho parlato prima dello *Xeroderma Pigmentosum* (XP), una patologia molto rara associata a difetti nella riparazione del DNA. La frequenza degli alleli\* mutati responsabili di questa patologia è molto bassa ( $1-5/10^5$  nati) ma il rischio di cancro associato è mille-diecimila volte di più rispetto alla popolazione generale. Accade esattamente il contrario nel caso dei polimorfismi, dove anche se la frequenza di un allele\* “a rischio” è molto elevata, cioè superiore all’1% (alcuni polimorfismi, per esempio in enzimi del metabolismo, sono presenti nel 50% della popolazione), il rischio di cancro associato è basso (aumento di 2-10 volte).

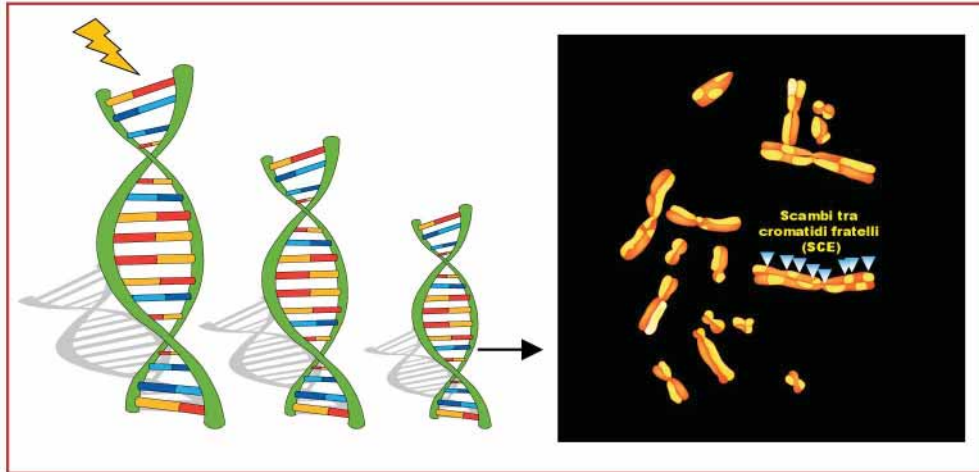
Molti studi sono stati condotti per stabilire quali polimorfismi siano eventualmente associati a maggior rischio di cancro. Tuttavia, questi dati di associazione vanno valutati con cautela perché la funzionalità delle varianti polimorfiche è spesso sconosciuta e la maggior parte degli studi ha analizzato una o poche varianti polimorfiche mentre la suscettibilità agli agenti cancerogeni coinvolge diversi *pathway* genici. Per quanto riguarda la suscettibilità ai tumori indotti da luce UV e dal fumo di sigaretta, ho mostrato quanto siano importanti la riparazione del DNA e la regolazione del metabolismo degli xenobiotici nella protezione della stabilità del genoma\*. Ma altrettanto importanti sono i geni che intervengono nel controllo del ciclo cellulare, dell’apoptosi\* e della risposta infiammatoria. Il processo, quindi, è molto complesso e la suscettibilità genetica può intervenire in vario modo e modulare questo percorso tra danno al DNA ed evento patologico finale.

Passo a due ultimi esempi che riguardano la contaminazione ambientale, in particolare da idrocarburi policiclici aromatici\*, e il rischio di alterazioni genetiche.

Alcuni Paesi dell’Est purtroppo sono stati spesso usati come Paesi “cavia” per studi sugli effetti di contaminanti ambientali in quanto l’esposizione è talvolta così elevata da permettere, attraverso una serie di tecniche disponibili in laboratorio, di misurare gli effetti genetici del danno del DNA nei linfociti periferici della popolazione esposta. Lo studio che descrivo brevemente è stato condotto negli anni ‘90 in una zona della Polonia ad alta contaminazione ambientale, in cui i livelli di benzo(a)pirene erano 10-60 volte superiori a quelli che abbiamo oggi normalmente nell’aria delle nostre città (Perera FR, Hemminki K *et al.*, 1992). In questo caso la contaminazione era così elevata sia per la presenza di insediamenti industriali ma anche per l’uso diffuso di carbone per il riscaldamento delle case. È stato eseguito uno studio caso-controllo\* in cui abitanti di questa zona ad alta contaminazione sono stati confrontati, con l’uso di biomarcatori\* di danno genetico, con abitanti di una zona rurale dove la contaminazione era molto più bassa.

Una breve parentesi per introdurre i biomarcatori di danno genetico, che possono essere strumenti molto importanti per evidenziare gli effetti di danno al DNA. Un saggio molto usato a questo scopo viene condotto su linfociti periferici e si chiama analisi degli scambi fra cromatidi\* fratelli (*sister chromatid exchanges*, SCE). Lo scambio tra cromatidi fratelli avviene perché se c’è una rottura su entrambi i filamenti del DNA, avviene uno scambio tra cromatidi omologhi durante la duplicazione del DNA. La Figura 9 ci mostra scambi fra cromatidi fratelli – ad altissima frequenza – dovuti al danno al DNA. Si mettono in evidenza facendo crescere le cellule per due cicli di replicazione in presenza di una sostanza, la bromodeossiuridina, che viene incorporata nel DNA durante la replicazione ed essendo fluorescente permette di identificare gli scambi.

Gli autori dello studio condotto in Polonia facendo l’analisi delle cellule con altissima frequenza di scambi tra cromatidi fratelli (*high frequency SCE*) e addotti del DNA hanno osservato una differenza significativa, nel periodo invernale, tra i livelli sia di danno al DNA che di danno genetico tra gli esposti e i controlli. Questo era dovuto al riscaldamento delle case, uno dei fattori di contaminazione prevalente, perché la differenza tendeva a scomparire nel periodo estivo.



**Figura 9** - Biomarcatori di danno genetico

Uno studio più recente (Peluso M, Munnia A *et al.*, 2005) è stato condotto per valutare il danno al DNA dovuto a contaminazioni presenti in area urbana. Si tratta di uno studio multicentrico caso-controllo condotto in vari Paesi europei. Si è voluto vedere se nei non fumatori che vengono colpiti da cancro al polmone ci fosse una maggiore presenza di addotti al DNA. Gli addotti del DNA – che qui vengono misurati con una tecnica cromatografica – nei leucociti dei non fumatori sono dei buoni predittori di rischio di cancro al polmone. Dall’analisi dei dati di contaminazione urbana e di biomarcatori di danno del DNA, è stata osservata una associazione significativa tra i livelli di addotti del DNA e i livelli di ozono rilevati. Questi risultati indicano l’importanza del ruolo dello smog fotochimico perché la presenza di O<sub>3</sub> produce anche una serie di cambiamenti di contaminanti ambientali presenti nell’aria, oltre ad indurre radicali liberi\* che creano un danno più generalizzato al DNA.

Già Ippocrate, nel V secolo a.C., osservava che esiste una forte variabilità interindividuale nel rischio di malattia e che ci sono uomini che sono forti come montagne con boschi e sorgenti d’acqua e altri che invece sembrano montagne con suolo arido e prive di acqua. Così concludo lasciandovi con questo messaggio generale che ho illustrato con diversi esempi: la complessa interazione tra gene e ambiente è alla base dello sviluppo del tumore e solo la ricerca delle basi genetiche della suscettibilità individuale e l’identificazione dei contaminanti ambientali potranno tradursi in efficaci misure preventive.

### Riferimenti bibliografici

D’Errico M, Calcagnile A, Iavarone I, *et al.* Factors that influence the DNA repair capacity of normal and skin cancer-affected individuals. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:553-9.

Peluso M, Munnia A, Hoek G, *et al.* DNA adducts and lung cancer risk: a prospective study. *Cancer Res* 2005;65:8042-8.

Perera FP, Hemminki K, Gryzbowska E, *et al.* Molecular and genetic damage in humans from environmental pollution in Poland. *Nature* 1992;360:256-8.

Wei Q, Matanoski GM, Farmer ER, *et al.* DNA repair and aging in basal cell carcinoma: a molecular epidemiology study. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1614-8.

## LE MICOTOSSINE NELLA FILIERA AGROALIMENTARE: INFORMAZIONI GENERALI E IMPATTO SULLA SALUTE DELL'UOMO E DEGLI ANIMALI

Marina Miraglia, Francesca Debegnach, Elena Pannunzi e Carlo Brera

*Centro Nazionale Qualità degli Alimenti e Rischi Alimentari,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### Introduzione

I composti chimici noti con il nome di micotossine\* sono sostanze ad azione tossica nei confronti dell'uomo e degli animali. Queste sono prodotte, in particolari condizioni ambientali, da numerose specie di funghi filamentosi microscopici. Il numero di muffe\* tossigene note è andato crescendo negli ultimi decenni e, accanto alle micotossine più studiate ("micotossine principali"), sono disponibili informazioni circa una classe di micotossine meno studiate ("micotossine minori") che potrebbero essere classificate fra i rischi emergenti. Nonostante lo studio sistematico delle micotossine sia iniziato da più di quarant'anni, solo recentemente il loro potenziale impatto sulla salute dell'uomo e degli animali ha ricevuto una crescente attenzione sia da parte della comunità scientifica e delle organizzazioni internazionali interessate ai problemi di sicurezza alimentare, sia da parte dei produttori e delle autorità preposte alla gestione del rischio. Tuttavia, anche se negli ultimi anni le associazioni dei consumatori hanno dimostrato crescente attenzione al problema, resta tuttora scarsa la conoscenza e quindi l'interesse del consumatore medio circa il problema di sicurezza alimentare legato alla contaminazione da micotossine.

A causa dell'elevata diffusione e tossicità di queste sostanze, del numero crescente di derrate alimentari riconosciuto passibile di contaminazione, dell'impatto sanitario, economico, commerciale ed etico di questi composti tossici, le autorità competenti di molti Paesi del mondo attualmente considerano il problema delle micotossine fra le priorità in tema di sicurezza alimentare. Inoltre nell'ultimo decennio organizzazioni internazionali quali il *Codex Alimentarius*, la FAO (Food and Agriculture Organization) e il WHO (World Health Organization) hanno assunto la leadership nel difficile compito di individuare e stabilire criteri per l'analisi del rischio e per l'armonizzazione delle procedure a questa connesse.

### Produzione di micotossine

Le muffe tossigene producono in particolari condizioni ambientali micotossine secondo vie metaboliche secondarie. Le muffe particolarmente ubiquitarie e diffuse appartengono al genere *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* e le micotossine principali prodotte sono le aflatossine\* (AFL), l'ocratossina\* A (OTA), le fumonisine (FB), i tricoteceni, lo zearalenone (ZEA), la patulina e le tossine dell'ergot. Oltre a queste micotossine, particolarmente studiate, sono noti un numero considerevole di altri metaboliti fungini per i quali frequenza di contaminazione e studi di tossicità

suggeriscono una maggiore attenzione da parte sia della comunità scientifica, sia delle strutture preposte alla tutela della salute dell'uomo e degli animali. Questa lista di tossine include l'acido ciclopiazonico, la sterigmatocistina, la gliotossina, la citrinina, le tossine tremorgeniche, quale il penitrem, la fusarina C, l'acido fusarico, l'acido penicillico, l'acido micofenolico, la rocfortina, la tossina\* PR, e le tossine prodotte dal genere *Stachybotrys*, che sembrano particolarmente importanti per gli ambienti domestici.

Le micotossine sono sostanze chimiche che residuano nelle derrate alimentari anche laddove la muffa abbia cessato il suo ciclo vitale o sia stata rimossa dalle operazioni tecnologiche di lavorazione dell'alimento o del mangime. Inoltre le principali micotossine sono resistenti alle normali operazioni di cottura degli alimenti. Le condizioni che influenzano la biosintesi delle micotossine sono peculiari per le singole specie e includono condizioni geografiche e ambientali, pratiche di coltivazione, stoccaggio e tipo di substrato\*. Un'eccellente rassegna sui parametri che influenzano la crescita fungina per le più importanti specie fungine e la biosintesi delle principali micotossine è fornita dal Rapporto del CAST (Council for Agricultural Science and Technology) pubblicato recentemente (2003).

### **Presenza di micotossine in alimenti e mangimi**

Il numero delle matrici alimentari per le quali l'incidenza di micotossine ha suscitato motivi di preoccupazione è andato crescendo negli ultimi anni, includendo sia materie prime quali cereali, semi oleaginosi, semi di caffè e cacao, spezie, frutta secca ed essiccata, sia prodotti derivati e trasformati quali vino, birra, uvetta, cacao e cioccolata, caffè tostato e succhi di frutta. Come sopramenzionato, sono infatti pochi i processi tecnologici in grado di ridurre il livello delle tossine inizialmente presenti nelle materie prime; in particolare i trattamenti alcalini, come ad esempio la raffinazione degli oli, degradano le AFL presenti nei semi oleaginosi e la tostatura del caffè riduce fino al 50% l'OTA presente nei semi grezzi. Inoltre alcuni processi tecnologici comportano una variazione del livello di tossina nei prodotti derivati: il processo di molitura dei cereali implica una concentrazione di tossina nelle parti cruscali e una diminuzione nelle frazioni più raffinate, dipendente dal tipo di tossina e di cereale. Gli studi finora effettuati riguardano l'aflatossina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), l'OTA e la fumosina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>). Per quanto concerne l'aflatossina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) nei formaggi è stato generalmente osservato un aumento di concentrazione dal latte al prodotto finito.

Livelli preoccupanti di OTA sono stati di recente evidenziati nel latte materno. In particolare un monitoraggio eseguito su circa 500 campioni di latte prelevati nelle varie regioni italiane ha evidenziato una percentuale elevata (63%) di campioni contaminati a livelli compresi tra 0,017 e 2,350 ng/ml. Solo nel 34% dei campioni la contaminazione era inferiore al valore massimo di intake di 17 ng/kgpc/giorno raccomandato dal Scientific Committee on Food dell'Unione Europea per la popolazione adulta. Studi ulteriori saranno necessari per verificare se altre micotossine possono essere trasferite nel latte materno, fonte preziosa di nutrizione per una fascia di popolazione particolarmente a rischio.

La presenza di micotossine nei mangimi, oltre a rappresentare un problema di vastissime proporzioni per gli allevamenti, può costituire un'ulteriore fonte di rischio per l'uomo, attraverso il trasferimento di tossine nei prodotti d'origine animale quali il latte e i prodotti lattiero-caseari, la carne e le uova. Fra le micotossine più frequen-

temente riscontrate in questa tipologia di prodotti un ruolo primario è rivestito dall'AFM<sub>1</sub>, prodotta negli animali da latte per idrossilazione dell'AFB<sub>1</sub> in ragione dell'1-6% rispetto alla tossina genitrice, e l'OTA nei prodotti derivati dai suini. Storicamente in Europa il latte rappresenta la prima matrice alimentare per la quale sono state adottate misure preventive per la presenza di AFM<sub>1</sub>, attraverso la definizione di limiti per l'AFB<sub>1</sub> nei mangimi. Un problema di grande attualità è rappresentato dal livello di AFM<sub>1</sub> nei formaggi; tale livello dipende, come sopra menzionato, da fattori di concentrazione della tossina durante il processo di caseificazione. Questi fattori non sono attualmente noti e costituiscono motivo di dibattito nell'ambito del controllo della tossina nei prodotti lattiero-caseari. Un'ulteriore fonte di assunzione di micotossine da parte di alcune fasce di popolazione è rappresentata dall'inalazione di polveri aereodisperse contaminate da micotossine. Questa circostanza può verificarsi sia in ambienti di lavoro in cui sono trattate derrate contaminate, sia in ambienti domestici in cui le cattive condizioni igienico-ambientali hanno portato alla formazione di muffe sulle pareti. In Figura 1 sono rappresentate le interrelazioni attualmente documentate fra micotossine e uomo/animali.

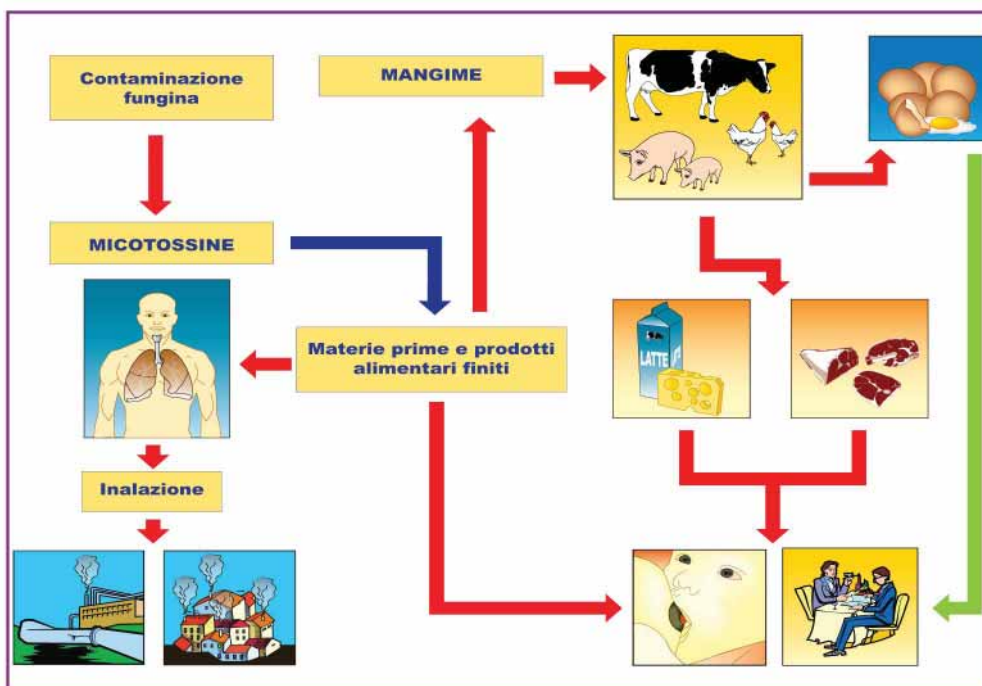


Figura 1 - Possibili fonti di micotossine per le specie umane

### L'analisi del rischio da micotossine

Le informazioni disponibili sulla gravità del significato globale delle micotossine e sul loro impatto sulla salute dell'uomo e degli animali hanno spinto le organizzazioni nazionali e internazionali a intraprendere l'analisi sistematica del rischio attribuibile a questi composti. I criteri seguiti sono conformi allo schema proposto da FAO/WHO (1995) secondo cui l'analisi del rischio è costituita dai tre elementi specifici di

valutazione, di comunicazione e di gestione del rischio, ciascuno dei quali costituito da diverse componenti. Per alcune sostanze chimiche, quali i pesticidi, l'analisi del rischio è stata già effettuata in maniera organica, mentre per le micotossine molti aspetti sono ancora da sviluppare e da armonizzare. Alcuni aspetti dell'analisi del rischio da micotossine vengono di seguito presi in considerazione, con particolare riferimento alla valutazione e alla gestione del rischio. Queste due componenti non devono essere considerate totalmente disgiunte poiché in entrambe alcuni loro elementi, quali l'incidenza di contaminazione e la disponibilità d'idonei metodi di campionamento e d'analisi, giocano un ruolo importante.

### *La valutazione del rischio*

La valutazione del rischio, alla quale contribuisce, come ampiamente trattato nel capitolo d'introduzione alla tossicologia, sia l'identificazione e la caratterizzazione del pericolo riferibile alla sostanza tossica, sia la valutazione dell'esposizione, è stata sviluppata in maniera organica, specialmente in Europa, per le principali micotossine, tuttavia molti risultati ottenuti suggeriscono la necessità di ulteriori approfondimenti.

La caratterizzazione del pericolo, cioè la valutazione qualitativa e quantitativa della natura dell'effetto tossico, è stata sufficientemente chiarita per le principali micotossine quali AFL, OTA, fusariotossine e patulina, mentre per le micotossine "minori" sarebbero necessarie ulteriori ricerche. A causa del cammino biosintetico differenziato, che porta alla formazione delle varie micotossine, la loro struttura chimica è molto diversificata; pertanto gli effetti tossici nell'uomo e negli animali sono molto diversi e in massima parte riconducibili alla formazione d'addotti\* con varie molecole come il DNA, RNA\*, proteine funzionali, cofattori enzimatici e costituenti di membrana. Un moderno approccio per la classificazione della tossicità delle micotossine è basato sulla valutazione dell'effetto tossico sui vari organi o sistema bersaglio. Il fegato è l'organo bersaglio per le AFL, ma sono riportati effetti tossici da parte anche delle FB e della sporidesmina; i tricoteceni esercitano un'azione tossica sul sistema gastrointestinale e su quello ematopoietico, mentre il sistema renale e urogenitale rappresenta il bersaglio soprattutto da parte dell'OTA, ma anche del 4-deossinivalenolo (DON). Effetti tossici sul sistema riproduttivo sono particolarmente evidenti per lo ZEA e per gli alcaloidi dell'ergot, effetti neurotossici sono stati evidenziati per le tossine tremorigene (penitrem A) e per gli alcaloidi dell'ergot. Effetti sul sistema immunitario sono stati dimostrati per le AFL, i tricoteceni e l'OTA. Informazioni sul meccanismo d'azione dell'AFB<sub>1</sub>, dell'OTA e della FB sono fornite (rassegna di Fink-Gremmels del 1996), ulteriori indicazioni sull'OTA e sulle fusariotossine evidenziate dai progetti europei inerenti al *Mycotoxin Prevention Cluster* sono disponibili all'indirizzo web <http://www.mycotoxin-prevention.com>. In tale contesto è stata studiata, con tecniche più avanzate, la tossicità di alcune micotossine fra cui l'OTA. In particolare, gli studi di Dekant sembrerebbero escludere l'ipotizzata genotossicità di questa tossina.

Per quanto riguarda l'effetto cancerogeno, lo IARC (International Agency for Research on Cancer) ha classificato l'AFB<sub>1</sub> nel gruppo 1 (evidenza adeguata di cancerogenicità per l'uomo), mentre l'OTA è stata classificata nel gruppo 2B (potenzialmente cancerogeno per l'uomo). A livello europeo ottime informazioni sulla tossicità di OTA, AFL, fusariotossine e patulina possono ottenersi dalle



pubblicazioni dell'SCF (Scientific Committee for Food, 1999-2002). Inoltre, nel 2002 il JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) del WHO e della FAO ha pubblicato un rapporto concernente la caratterizzazione del pericolo da AFM<sub>1</sub>, OTA, FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, e FB<sub>3</sub>, DON e dalle tossine T-2 e HT-2. La valutazione del JECFA normalmente comprende per le sostanze non cancerogene la definizione del PMTWI (*Provisional Maximum Tolerable Weekly Intake*) o del PMTDI (*Provisional Maximum Tolerable Daily Intake*) in cui il termine *provisional* indica che i dati disponibili non sono sufficienti per stabilire esattamente l'impatto sulla salute ai valori suggeriti di assunzione massima. I valori d'assunzione massima sopraindicati sono stabiliti sulla base del NOEL (*No Observable Effect Level*) e l'applicazione di un fattore d'incertezza, che è fissato normalmente a 100, ma può essere aumentato nel caso d'insufficienti dati di tossicità. Per le sostanze genotossiche, quali l'AFB<sub>1</sub>, lo JECFA non assegna alcun valore di PMTWI o PMTDI perché si assume che tali sostanze anche in piccole dosi possano esercitare un effetto tossico e dovrebbero pertanto essere assenti. Tuttavia, nei casi in cui non è possibile eliminare totalmente la presenza di una sostanza tossica dagli alimenti senza compromettere le riserve alimentari mondiali, il JECFA raccomanda un livello massimo di contaminazione definito come ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*), come nel caso dell'AFB<sub>1</sub>.

In Tabella 1 sono riportati i valori di PMTDI indicati dal JECFA per le micotossine prese in considerazione.

**Tabella 1** - Valori di assunzione massima giornaliera considerata tollerabile in via provvisoria per le principali micotossine

Micotossina	PMTDI
Ocratossina A (OTA)	17 ng/kg pc/giorno
Fumonisina B <sub>1</sub> (FB <sub>1</sub> )	2 µg/kg pc/giorno
Fumonisina B <sub>2</sub> (FB <sub>2</sub> )	2 µg/kg pc/giorno
Fumonisina B <sub>3</sub> (FB <sub>3</sub> )	2 µg/kg pc/giorno
Deossinivalenolo (DON)	1 µg/kg pc/giorno
Tossina T-2	60 ng/pc/giorno
Tossina HT-2	60 ng/kg pc/giorno

PMTDI: *Provisional Maximum Tolerable Daily Intake*; pc: peso corporeo.

Per la *valutazione dell'esposizione* sono state intraprese a livello europeo numerose iniziative che, attraverso l'elaborazione di dati relativi all'incidenza di contaminazione e dati di consumo, hanno fornito informazioni sull'esposizione della popolazione europea alle principali micotossine. Secondo quanto sopraindicato, alla valutazione dell'esposizione contribuiscono dati d'incidenza di contaminazione e di consumi alimentari. Attualmente le metodologie di valutazione dell'esposizione per le sostanze chimiche adottate in Europa utilizzano un approccio deterministico che combina i database dei dati di consumi alimentari con quelli relativi all'incidenza di contaminazione. È in corso di svolgimento un progetto comunitario sulla sicurezza alimentare che intende effettuare la valutazione del rischio tramite un approccio probabilistico.



I risultati più rilevanti per la valutazione dell'esposizione sono stati raggiunti dalle Tasks dell'Unione Europea (Task 2002-2003), sulla base della Decisione della Commissione 94/652/EC relativa a numerose sostanze chimiche fra cui le principali micotossine. Sono stati finora valutati gli effetti della esposizione alle AFL, all'OTA, alle fusariotossine e alla patulina. Tuttavia, essendo sempre crescente il numero delle matrici alimentari note come passibili di contaminazione, la valutazione dell'esposizione totale, data dalla somma dei contributi da parte delle singole matrici alimentari, richiede continui aggiornamenti.

Un'accurata conoscenza dell'*incidenza di contaminazione*, cioè delle frequenze e dei livelli di contaminazione da micotossine nelle diverse matrici alimentari, rappresenta la base non solo per la valutazione dell'esposizione, ma anche per la programmazione delle opportune misure di gestione del rischio. Una delle iniziative a livello internazionale per valutare frequenza e livelli di contaminazione da micotossine nelle derrate alimentari è rappresentata dal programma GEMS FOOD; inoltre una recente e valida rassegna dei dati di incidenza di contaminazione è disponibile nel Rapporto del CAST, citato precedentemente (2003), che fornisce dati accorpati per genere/specie fungine riscontrati nelle diverse derrate, per matrici affette da contaminazione e per livelli di tossine negli alimenti processati. A livello europeo dati d'incidenza di contaminazione di alcune micotossine in talune derrate alimentari (OTA in cacao e caffè, AFL in spezie, arachidi, pistacchi e alimenti per l'infanzia) sono stati affrontati nell'ambito del controllo ufficiale degli alimenti.

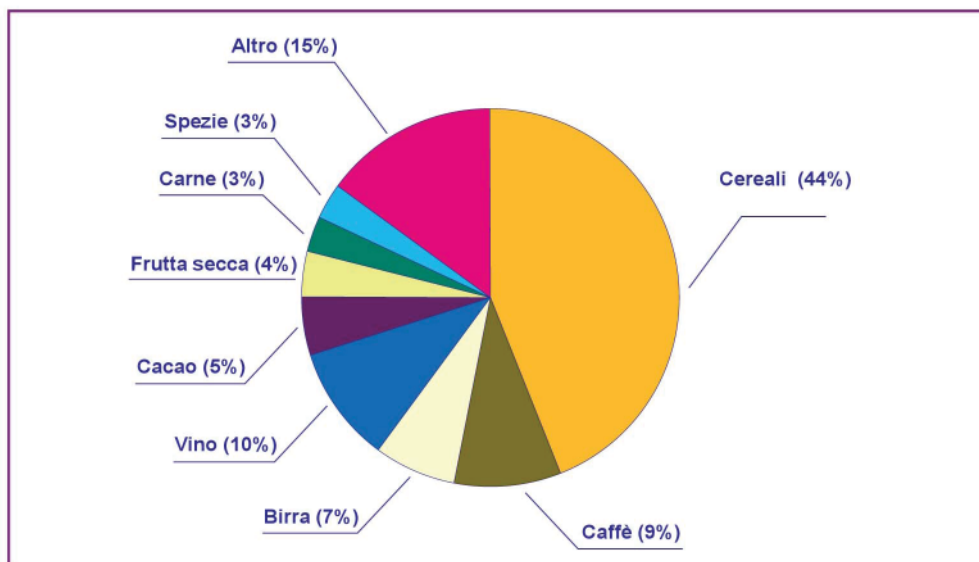
Un aspetto cruciale nella valutazione dell'incidenza di contaminazione e conseguentemente nella valutazione del rischio è dato dall'attendibilità dei metodi d'analisi e campionamento impiegati nei monitoraggi. La rilevanza dell'assicurazione di qualità del dato analitico è stata riconosciuta solo negli ultimi anni, pertanto l'attendibilità di dati non recenti d'incidenza di contaminazione da micotossine è da ritenersi scarsa. A tale mancanza d'attendibilità inoltre può contribuire in maniera determinante il mancato impiego di procedure di campionamento appropriate. Essendo, infatti, le micotossine distribuite in maniera disomogenea nella massa, il dato proveniente dalle analisi di laboratorio è rappresentativo dell'intera massa solo se le operazioni di campionamento sono state eseguite in maniera idonea, e l'errore insito nel campionamento è di gran lunga superiore a quello dell'analisi. Purtroppo, nella pratica, le procedure di campionamento spesso non sono eseguite correttamente a causa sia della scarsa conoscenza del problema, sia dell'onere economico e del dispendio di tempo necessari nell'esecuzione di un buon campionamento. Pertanto, rispetto a quest'ultimo, errate procedure inficiano totalmente l'affidabilità del dato analitico, portando ad una sottostima del livello di contaminazione, e molti dei dati d'incidenza di contaminazione prodotti nel passato dovrebbero considerarsi non rappresentativi della situazione reale.

In Tabella 2 vengono riportati i recenti risultati ottenuti rispettivamente per la valutazione dell'esposizione della popolazione europea all'OTA derivante dalle diverse matrici passibili di contaminazione mentre in Figura 2 è illustrato il contributo all'esposizione fornito dalle diverse matrici alimentari. Come si può rilevare nessun Paese europeo ha potuto fornire dati relativi a tutte le matrici alimentari fino a quel momento considerate suscettibili di contaminazione, portando pertanto a valori sottostimati dell'esposizione totale. Va inoltre considerato che attualmente le matrici potenzialmente contaminate da OTA, includendo altre voci quali frutta secca, spezie e liquirizia, sono in numero maggiore rispetto a quelle considerate (Task 2002-2003) .

**Tabella 2** - Assunzione giornaliera di ocratossina A con la dieta per ciascun alimento ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  or  $\mu\text{g}/\text{l}$ )

	Cereali	Caffè	Birra	Vino	Cacao	Frutta secca	Carne	Spezie	Altro	Assunzione totale
Danimarca (P)	0,86	0,19	0,14							1,19
Finlandia (P)	1,03	3,94	0,12	0,12		0,02				5,23
Francia (P)	1,24	0,27		0,50		0,10			0,40	2,51
Francia (A)	1,14	0,25		0,47		0,10			0,35	2,31
Francia (B)	2,26	0,11		0,03		0,11			0,88	3,39
Germania (P >14 anni)	0,65	0,14	0,08	0,05	0,07		0,06			1,05
Germania (P <14 anni)	1,25	0,01	0,01		0,29		0,11			1,67
Germania (D)	2,10		0,03		0,66		0,20			2,99
Grecia (P)		0,10		0,05						0,15
Grecia (U)		0,10		0,03						0,13
Grecia (SU)		0,10		0,06						0,16
Grecia (R)		0,12		0,11						0,23
Italia (P)	0,06	0,06	0,01	0,20				0,12	0,02	0,47
Italia (C)	0,24	0,09	0,03	0,68				0,17	0,05	1,26
Norvegia (P)	0,74	2,29							0,07	3,10
Norvegia (U)	0,80	2,26							0,07	3,13
Norvegia (D)	0,66	2,29							0,06	3,01
Portogallo (P)	0,69	0,09	0,01	0,02						0,81
Spagna (P)	0,08	0,15	0,09	0,07						0,39
Svezia (A)	1,04	1,12	0,05	0,18		0,40			0,22	3,01
Svezia (B)	1,61	0,46	0,04	0,18		0,52			0,45	3,26
Svezia (P)	0,99	1,12	0,03	0,06		0,07			0,30	2,58
Olanda (P)	1,21	0,21		0,03						1,45
Olanda (C)		0,30		0,95						1,25
Inghilterra (P >16 anni)	0,34	0,04		0,05	0,05					0,48
Inghilterra (P 1,5-4,5 anni)	0,61	0,06		0,14	0,55	0,29				1,45
Inghilterra (C >16 anni)	0,42	0,04		0,04	0,09	0,03				0,74
Inghilterra (C 1,5-4,5 anni)	0,73				0,67	5,18				6,66

P = Tutta la popolazione; A = Adulti; B = Bambini; D = Donne; U = Uomini; SU = Popolazione della periferia; R = Popolazione rurale; C = Solo consumatori



**Figura 2** - Contributo delle varie matrici alimentari all'esposizione totale del consumatore europeo all'ocratossina A. (Tratto da [http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf))

### Gestione del rischio

In generale molti sono gli elementi che dovrebbero essere presi in considerazione nell'attuazione di una gestione del rischio efficace e prospettica. Alcuni di questi aspetti, quali la valutazione dell'incidenza di contaminazione e l'assicurazione di qualità sia del dato analitico, sia del campionamento, sono stati discussi in precedenza. Vengono di seguito trattate altre misure di gestione del rischio, con particolare riferimento alle azioni di prevenzione della contaminazione stessa e alla definizione di limiti di legge.

*Azioni preventive:* le azioni volte a prevenire l'attacco delle muffe tossigene e la formazione di micotossine sono usualmente raggruppate in attività relative alle fasi di coltivazione/raccolto e attività eseguite nella fase post-raccolto, incluso il trasporto, l'immagazzinamento e le attività di trasformazione. Per le micotossine, infatti, più che per altri contaminanti, è fondamentale che il sistema di HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point\**) sia considerato in maniera integrata, comprendendo pertanto l'intera filiera produttiva, dal campo al piatto. Inoltre, la conoscenza dell'ecologia fungina rappresenta la base per la prevenzione della formazione di muffe e di micotossine. Molte iniziative in tal senso sono state intraprese e alcune hanno già mostrato i primi risultati. In particolare, sotto il coordinamento della FAO, sono stati condotti studi mirati alla conoscenza completa dell'ecologia fungina che porta alla presenza dell'OTA nel caffè e all'individuazione dei punti critici dell'intera filiera produttiva. Tali conoscenze hanno fornito la base per l'attuazione di programmi di educazione dei piccoli e medi produttori di questa materia prima, economicamente importantissima per alcuni Paesi in via di sviluppo. Rapporti sull'ecologia fungina e sui sistemi di prevenzione della contaminazione da muffe e da micotossine sono stati elaborati sotto l'egida del *Codex Alimentarius*; in particolare sono reperibili informazioni per l'OTA, lo ZEA, le FB ed i tricoteceni nei cereali, per la patulina nei prodotti a base di mela, e per le AFL nei pistacchi ([www.codex.com](http://www.codex.com)).

Inoltre, sempre nell'ambito dei programmi della Commissione Europea sono state di recente sviluppate ricerche volte allo sviluppo di sistemi preventivi per alcune micotossine (OTA e fusariotossine) in talune matrici ([www.mycotoxin-prevention.com](http://www.mycotoxin-prevention.com)).

Un progetto satellite del *Mycotoxin Prevention Cluster* ha sviluppato il problema dell'OTA nel vino valutandone il rischio e studiando i problemi relativi alla gestione integrata nell'uva e nel vino ([www.ochra-wine.com](http://www.ochra-wine.com)).

Un efficace sistema di prevenzione della contaminazione da muffe e micotossine può essere rappresentato dalla coltivazione di alcune tipologie di piante OGM. In particolare è stata evidenziata una rilevante riduzione di fusariotossine nel mais geneticamente modificato per la resistenza agli insetti. Il minore attacco da parte degli insetti riduce, infatti, il danno alle granaglie con conseguente minore possibilità d'attacco da parte delle muffe.

*Limiti di legge:* fra le componenti della gestione del rischio derivante dalla presenza di una sostanza indesiderabile negli alimenti e nei mangimi, la fissazione di limiti massimi ammissibili rappresenta uno dei momenti più incisivi al fine di salvaguardare la salute dell'uomo e degli animali e di armonizzare la gestione del problema da parte di coloro che sono portatori dei diversi interessi coinvolti. Per le micotossine la complessità dei fattori e delle conseguenze attribuibili alla loro presenza nelle derrate alimentari comporta che la fissazione di limiti massimi di legge sia influenzata da numerosi elementi, alcuni dei quali estranei alla tossicità della micotossina\* in esame. Infatti, anche se le TDI (*Tolerable Daily Intake*) raccomandate rappresentano generalmente l'indicazione guida per la definizione di limiti di legge, altri fattori giocano un ruolo di rilievo quali l'entità dell'incidenza di contaminazione nelle derrate in circolazione e la disponibilità di appropriati metodi validati di campionamento e di analisi. Inoltre, considerazioni di carattere commerciale ed etico e di disponibilità di risorse alimentari sono fattori presi in considerazione in una visione internazionale della definizione di limiti massimi tollerabili. Ad esempio la regolamentazione stringente per l'AFB<sub>1</sub> attualmente in vigore in Europa crea ad alcuni Paesi in via di sviluppo problemi nell'esportazione delle materie prime impiegate nelle preparazioni mangimistiche. Negli ultimi anni l'Unione Europea ha tenuto sotto controllo e in molti casi ha temporaneamente bloccato le importazioni di pistacchi dall'Iran e dalla Turchia, di arachidi dall'Egitto e dalla Cina, di noci brasiliane dal Brasile, e di fichi secchi e nocciole dalla Turchia. Per quanto concerne gli aspetti etici sono rilevanti le considerazioni legate alla disponibilità di risorse alimentari nei Paesi in via di sviluppo, dove la contaminazione da micotossine è particolarmente elevata a causa delle favorevoli condizioni geografiche ed ambientali e dello scarso impiego di buone pratiche agricole. Questi Paesi sono spesso economicamente dipendenti dall'esportazione di materie prime e limiti troppo restrittivi nei Paesi importatori possono comportare l'utilizzo in loco di derrate non idonee all'esportazione. Per contro proprio in questi Paesi, in cui le risorse alimentari sono già limitate, l'esclusione dal consumo di derrate contaminate può portare a mancanza di sufficienti risorse alimentari e a un eccessivo aumento dei prezzi.

La complessità dei fattori che influenzano la normativa rende molto lento e controverso, a livello internazionale, il processo di definizione di limiti massimi tollerabili; un ruolo di rilievo nell'armonizzazione dei limiti è attualmente rivestito dal *Codex Alimentarius*.

In Europa il processo di regolamentazione delle micotossine negli alimenti è iniziato nel 1998 con il Regolamento (CE) 1525/98; gli attuali limiti sono stabiliti dai Regolamenti (CE) 472/2002, 2174/2003 e 1425/2003. I limiti fissati da queste normative sono riassunti nelle Tabelle 3a, 3b, e 3c. Attualmente sono in discussione a livello comunitario limiti per FB, DON e ZEA. In aggiunta ai limiti massimi ammissibili in vigore in Europa, la legislazione italiana ne prevede ulteriori per altre micotossine in talune matrici alimentari (Tabella 3d), (Circolare n. 10 del 9 giugno 1999).

**Tabella 3a** - Limiti per le aflatossine in Europa

<b>Matrice alimentare</b>	<b>B<sub>1</sub></b> <b>(µg/kg)</b>	<b>B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub></b> <b>(µg/kg)</b>	<b>M<sub>1</sub></b> <b>(µg/kg)</b>
<b>Arachidi, frutta a guscio e frutta secca</b>			
Arachidi, frutta a guscio e frutta secca e relativi prodotti di lavorazione destinati al consumo umano diretto e all'utilizzazione quali ingredienti per la produzione di derrate alimentari	2,0	4,0	-
Arachidi da sottoporre a trattamenti fisici prima del consumo umano o dell'impiego come ingrediente di derrate alimentari	8,0	15,0	-
Frutta a guscio e frutta secca da sottoporre ad altri trattamenti fisici prima del consumo umano o dell'impiego quale ingrediente di derrate alimentari	5,0	10,0	-
<b>Cereali</b>			
Cereali e relativi prodotti della lavorazione destinati al consumo umano diretto o all'impiego come ingrediente di derrate alimentari	2,0	4,0	-
Cereali destinato alla cernita o altri trattamenti fisici prima del consumo umano o dell'impiego quale ingrediente di derrate alimentari	2,0	4,0	-
Granoturco da essere sottoposto a trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quale ingrediente di derrate alimentari	5,0	10,0	-
<b>Latte</b>	-	-	0,05
Spezie: peperoncini, pepe di caienna, paprika, pepe bianco, pepe nero, noce moscata, zenzero e curcuma	5,0	10,0	-

**Tabella 3b** - Limiti per la patulina in Europa

<b>Matrice alimentare</b>	<b>µg/kg</b>
Succhi di frutta, in particolare succo di mela e ingredienti di succo di frutta presenti in altre bevande compreso il nettare di frutta	50,0
Bevande alcoliche, sidro e altre bevande fermentate derivate dalle mele o contenenti succo di mela	50,0
Prodotti contenenti mele allo stato solido, compresi la composta di mele e il passato di mele destinati al consumo	25,0
Succo di mela pronto al consumo e prodotti contenenti mele allo stato solido, compresa la composta e il passato di mele per lattanti e bambini nella prima infanzia etichettati e venduti come tali	10,0

**Tabella 3c** - Limiti per l'ocratossina A in Europa

Matrice alimentare	µg/kg
Cereali e prodotti a base di cereali	
Cereali non lavorati	5
Tutti i prodotti derivati dai cereali	3
Frutti essiccati della vite	10

**Tabella 3d** - Valori massimi ammissibili per le micotossine nella legislazione italiana

Matrice alimentare	B <sub>1</sub> (µg/kg)	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub> (µg/kg)	M <sub>1</sub> (µg/kg)	Ocratossina A (µg/kg)	Patulina (µg/kg)	Zearalenone (µg/kg)
Alimenti per l'infanzia		0,1	0,01	0,5		20
Spezie	10	20				
Caffè crudo				8		
Caffè tostato				4		
Cacao				2		
Cioccolato				0,5		
Birra				0,2		
Carne suina e prodotti derivati			1			
Cereali e prodotti derivati						100
Piante infusionali o loro parti	5	10				

### Principali micotossine

Vengono di seguito riportate alcune informazioni sulle principali micotossine, rimandando alla bibliografia per ulteriori approfondimenti.

#### Aflatossine

Le AFL sono prodotte da specie di *Aspergillus*, principalmente *A. flavus* e *A. parasiticus*. Questi funghi sono ubiquitari, ma sono più abbondanti nei climi subtropicali e caldo-umidi a latitudini da 26° a 35° a nord e a sud dell'equatore. I prodotti passibili di contaminazione in campo includono mais, arachidi, cotone, spezie, mandorle, pistacchi, nocciole e noci del Brasile. La produzione di AFL da parte dell'*A. flavus* risulta particolarmente abbondante in stagioni con temperature superiori alla media e piovosità inferiori alla media. La presenza d'insetti spesso coincide con alti livelli di AFL specie nel caso della piralide del mais (*Ostrinia nubilalis*).

Le AFL sono sostanze chimicamente riferibili alla difuranocumarina. Fra le 17 AFL finora isolate solo quattro sono considerate rilevanti, le AFL B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, sia per diffusione, sia per tossicità. La serie G contiene un anello lattonico in D, mentre la serie B contiene un anello ciclopentenonico, responsabile della maggiore tossicità. Le AFL sono sostanze cristalline, solubili in solventi organici moderatamente polari, come cloroformio, metanolo, dimetilsolfossido, poco solubili in acqua (10-30 µg/ml) e insolubili nei solventi organici non polari. Le AFL allo stato puro sono stabili in assenza di luce e degradate dalle radiazioni UV, instabili in condizioni di pH < 3 e > 10 e in presenza di agenti ossidanti. Queste tossine sono dotate di fluorescenza nativa, che è utilizzata per l'analisi e per la cernita delle unità contaminate (ad esempio per fichi secchi e arachidi).

Le formule chimiche delle AFL sono riportate in Figura 3.

L'AFL<sub>1</sub> è genotossica e cancerogena a carico del fegato e anche gli effetti tossici delle altre AFL sono riconducibili a epatotossicità, iperplasia dei condotti biliari, emorragia del tratto gastrointestinale e dei reni.

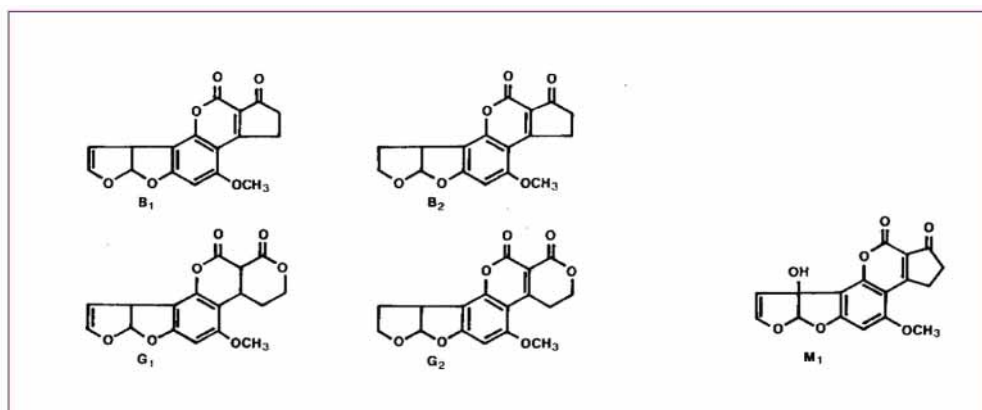


Figura 3 - Struttura chimica delle aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e M<sub>1</sub>

### Ocratossina A

L'OTA è prodotta principalmente da funghi del genere *Aspergillus* (principalmente *A. ochraceus*) e *Penicillium* (principalmente *P. verrucosum*). Per la vite e i prodotti derivati, incluso il vino, la contaminazione da OTA è riferibile predominantemente all'attacco dell'*A. carbonarius*. A 24 °C i valori di A<sub>w</sub> (attività dell'acqua libera) ottimale per la produzione di tossina sono nell'intervallo 0,95-0,99 a seconda dell'organismo produttore, mentre, per i valori di A<sub>w</sub>, ottimali gli intervalli di temperatura in cui si ha formazione di tossina sono 12-37 °C per l'*A. ochraceus* e 4-31 °C per il *P. verrucosum*. Per i cereali l'OTA è prodotta dai *Penicillium* più frequentemente che dagli *Aspergillus*, trattandosi in genere di una contaminazione da stoccaggio. Gli effetti tossici dell'OTA includono una marcata

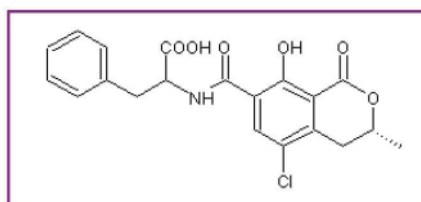


Figura 4 - Struttura chimica dell'ocratossina A



nefrotossicità con necrosi tubulare dei reni, danni al fegato, enteriti, teratogenesi e cancerogenicità a carico dei reni. Gli alimenti più suscettibili alla contaminazione da OTA includono i cereali (frumento, mais, orzo e avena), caffè e cacao, formaggi e carne suina. La formula chimica dell' OTA è riportata in Figura 4.

### Tricoteceni

I tricoteceni sono un gruppo di numerose sostanze prodotte da varie specie di *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Trichothecium* e *Verticimonosporium*. Sono attualmente noti circa 170 tricoteceni, tutti con un sistema ad anello tetraciclico sesquiterpenoide 12,13-epossitricotecen-9-ene, in cui la tossicità è dovuta al gruppo epossidico. La contaminazione si ha principalmente in frumento, orzo, segale e mais. I tricoteceni del tipo A includono principalmente le tossine T-2, HT-2 e diacetossiscirpenolo (DAS), quelli del tipo B includono principalmente il DON, noto come vomitossina, il nivalenolo (NIV), il 3-acetildeossinivalenolo (3-AcDON) e il 15-acetildeossinivalenolo (15-AcDON). La tossina più tossica di questo gruppo è la tossina T-2, seguita dal DAS e dal NIV, mentre il DON è la tossina più studiata in quanto la più diffusa, anche se negli studi di tossicità acuta ha dimostrato una bassa tossicità. Gli effetti tossici sull'uomo riferibili alle tossine di questo gruppo includono nausea, vomito, disordini gastrointestinali e mal di testa. Un'eccellente rassegna dei dati chimico-fisici relativi a questo gruppo di micotossine è stata pubblicata dal WHO e dallo IARC.

La struttura chimica dei principali tricoteceni è riportata in Figura 5.

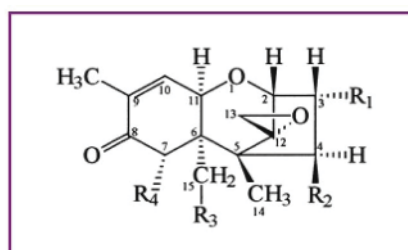


Figura 5 - Struttura chimica dei principali tricoteceni. R = OH o gruppi acil-ossi

### Zearalenone

Lo ZEA è una tossina con effetti estrogenici a struttura non steroidea prodotta da funghi del genere *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum* e *F. sacchari*). Lo ZEA è stato frequentemente riscontrato insieme ai tricoteceni ed è considerato, dopo il DON, la micotossina più frequentemente presente nel mais. Informazioni dettagliate sulle proprietà chimico-fisiche dello ZEA possono essere reperite dalle pubblicazioni dello IARC.

La struttura chimica dello ZEA è riportata in Figura 6.

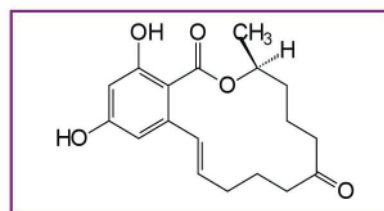


Figura 6 - Struttura chimica dello zearalenone

### Fumonisine

Le FB sono prodotte da funghi del genere *Fusarium*, soprattutto *F. verticilloides* e *F. proliferatum*. Il cereale più frequentemente contaminato da queste tossine è il mais, ma la tossina è stata ritrovata anche nel sorgo. Dal punto di vista della struttura le FB

sono correlate alle basi sfingoidi. Il consumo di mais contaminato da FB è stato associato a una maggiore incidenza di tumore esofageo. Studi di tossicità sugli animali evidenziano che il fegato è un organo bersaglio in tutte le specie studiate e il rene solo per alcune di queste, nei cavalli il consumo di mais contaminato da FB è collegato alla leucoencefalomalacia.

La struttura chimica delle FB è riportata in Figura 7.

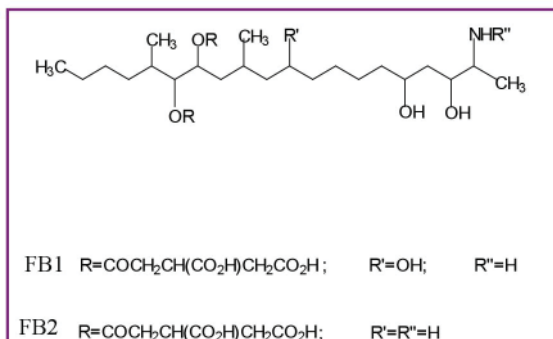


Figura 7 - Struttura chimica delle fumonisine

### Patulina

La patulina è una tossina prodotta da un numero elevato di funghi del genere *Aspergillus* e *Penicillium*. È stata ritrovata in frutta, ortaggi e cereali ammuffiti, ma la sua presenza è correlata soprattutto alla contaminazione da *P. expansum* sulle mele. Il grado di contaminazione è generalmente proporzionale a quello di ammuffimento, ma la tossina rimane confinata alle parti ammuffite. Essendo la patulina resistente ai processi industriali di lavorazione della frutta, i prodotti da questi derivanti sono le principali fonti di assunzione per questa tossina.

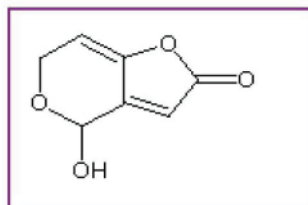


Figura 8 - Struttura chimica della patulina

Da un punto di vista chimico la patulina è un lattone, solubile in acqua, etanolo ed acetone. Si tratta di un composto di citotossicità mediata da un aumento della permeabilità di membrana. Inibisce *in vitro* numerosi enzimi, incluse la DNA polimerasi e l'RNA polimerasi. Gli studi di cancerogenicità e di mutagenicità finora condotti non sono sufficienti per fornire indicazioni circa questa tipologia di effetti.

La struttura chimica della patulina è riportata in Figura 8.

### Conclusioni

Le micotossine rappresentano uno degli aspetti più attuali e rilevanti della contaminazione di alimenti e mangimi. L'argomento si presenta particolarmente complesso, in quanto le considerazioni relative all'impatto sulla salute dell'uomo e degli animali si interfacciano con quelle relative alle pesanti ricadute economiche e politiche riferibili alla presenza di queste tossine.

Da un punto di vista conoscitivo-valutativo, nonostante i progressi effettuati negli ultimi decenni, è necessario che vengano ancora acquisite molte informazioni per giungere a un trattamento esaustivo della problematica. In particolare meriterebbero ulteriori approfondimenti argomenti quali la genomica delle specie tossigene, la valutazione del rischio per le tossine emergenti e vari aspetti della diagnostica, inclusa la valutazione statistica degli errori riferibili al campionamento, nonché lo sviluppo di metodi rapidi per il dosaggio delle micotossine.

## Riferimenti bibliografici

AOAC International. *Official methods of analysis*. 17th ed. Vol. II. Cunniff P, Arlington, VA (Ed.). AOAC Int., 49, 1-60; 2000.

Council for Agricultural Science and Technology. *Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems*. (Task Force Report, ISSN 0194; no. 139). CAST; 2003.

Food and Agriculture Organization. *Training in mycotoxins analysis. Manual of food quality control*. FAO; 1990.

Food and Agriculture Organization/World Health Organization. *Application of risk analysis to food standards issues*. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. Geneva, 13-17 March 1995.

Food and Agriculture Organization. *Worldwide regulations for mycotoxins. A compendium*. (FAO Food and Nutrition Paper No 64). Rome: FAO; 1997.

International Agency for Research on Cancer. *Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to human*. Vol 56. Lyon: IARC; 1993. [http://www.iarc.uaf.edu/2002\\_conferences.html](http://www.iarc.uaf.edu/2002_conferences.html).

International Agency for Research on Cancer. *Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to human*. Vol 82. Lyon: IARC; 2002. [http://www.iarc.uaf.edu/2002\\_conferences.html](http://www.iarc.uaf.edu/2002_conferences.html).

ISO/IEC/EN 17025. *Test and calibration lab requirements sanctioned interpretation to ISO/TS 16949*. International Organization for Standardization. 1999. <http://www.fasor.com/iso25>.

Italia. Circolare 9 giugno 1999, n. 10. Direttive in materia di controllo ufficiale sui prodotti alimentari: valori massimi ammissibili di micotossine nelle derrate alimentari di origine nazionale, comunitaria e paesi terzi. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* 11 giugno 1999.

Miraglia M, van Egmond HP, Brera C, Gilbert J. *Mycotoxins and phycotoxins. Development in chemistry, toxicology and food safety*. Fort Collins, Colorado: Alken, Inc.; 1998.

Scientific Committee on Food. *Opinion on fusarium toxins. Part 1: Deoxynivalenol (DON)*. (SCF/CS/CNTM/MYC/19 Final). 1999. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out44\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out44_en.pdf)

Scientific Committee on Food. *Opinion of the Scientific Committee on food on fusarium toxins. Part 2: Zearalenone (ZEA)*. (SCF/CS/CNTM/MYC/22 Rev 3 Final). 2000. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out65\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out65_en.pdf).

Scientific Committee on Food. *Opinion of the Scientific Committee on food on fusarium toxins. Part 3: fumonisin B1 (FB1)*. (SCF/CS/CNTM/MYC/24 Final). 2000. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out73\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out73_en.pdf).

Scientific Committee on Food. *Opinion of the Scientific Committee on food on fusarium toxins. Part 4: Nivalenol*. (SCF/CS/CNTM/MYC/26). 2000. Final [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out74\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out74_en.pdf).

Scientific Committee on Food. *Opinion of the Scientific Committee on food on fusarium toxins. Part 5: T-2 Toxin and HT-2 Toxin*. (SCF/CS/CNTM/MYC/25 Rev 6 Final). 2001. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out88\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out88_en.pdf).

Scientific Committee on Food. *Opinion of the Scientific Committee on food on fusarium toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol.* (SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final) 2002. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf).

Task 3.2.7. 2002. *Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states.* [http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf).

Task 3.2.8. 2002. *Assessment of dietary Intake of patulin by the population of EU member states.* [http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.8\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.8_en.pdf).

Task 3.2.10. 2003. *Collection of occurrence data of fusarium toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states.* <http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/task3210.pdf>.

World Health Organization. *Selected mycotoxins: ochratoxins, trichothecenes, ergot.* (Environmental Health Criteria, 105). Geneva: WHO; 1990.

World Health Organization. *Evaluation of certain mycotoxins in food.* Fifty-sixth report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (WHO Technical Report Series 906) Geneva: WHO; 2002.

**Ringraziamenti:** si ringrazia Viviana Renzi per il prezioso contributo redazionale nella stesura di questo documento.

## I CONTAMINANTI NELL'AMBIENTE: DISTRIBUZIONE, EFFETTI E RISCHIO PER GLI ORGANISMI

Silvia Marchini

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### Introduzione

Quando si parla di ambiente, i termini “contaminazione” e “inquinamento” sono spesso usati impropriamente come sinonimi. Più correttamente, “contaminazione” è definita come la conseguenza del rilascio di sostanze antropogeniche, tali da modificare le proprietà o la disponibilità e qualità delle risorse in un determinato intervallo di spazio e tempo. Si parla di inquinamento quando la contaminazione è tale da causare effetti deleteri sugli organismi viventi (Moriarty, 1983).

Gli effetti degli inquinanti sugli organismi nell'ambiente rappresentano l'oggetto di studio dell'ecotossicologia, ma è bene precisare che l'ecotossicologia ha una più ampia connotazione. Può essere definita infatti come il campo di indagine che integra gli studi classici della tossicologia (biocinetiche ed effetti sui singoli organismi e sulle popolazioni descritti nell'intervento di Emanuela Testai e gli studi di tipo ecologico (effetti sulle interazioni ecologiche e sulle funzioni dell'ecosistema, quale ad esempio il ciclo dei nutrienti) con il destino ambientale delle sostanze nell'ambiente (trasporto, trasformazione, degradazione) (Forbes e Forbes, 1994). L'indagine ecotossicologica si avvale inoltre di modelli matematici che, a partire dalla conoscenza della struttura chimica delle sostanze, delle loro proprietà chimico-fisiche, del loro modo d'azione e delle caratteristiche degli ecosistemi interessati, consentono di fare previsioni sulle concentrazioni attese nell'ambiente e sugli effetti tossici per gli organismi che vi sono esposti. Infine, il rischio conseguente all'immissione di una sostanza nell'ambiente non è altro che una valutazione probabilistica basata sul confronto tra la concentrazione attesa in un comparto ambientale (in particolare, quella disponibile per il biota\*) e la concentrazione tossica per i vari gruppi animali e vegetali.

Sono migliaia le sostanze (organiche e inorganiche) che vengono introdotte nell'ambiente a seguito di attività umane (ad esempio, scarichi civili e industriali), intenzionalmente (ad esempio, pesticidi usati in agricoltura, insetticidi usati nelle disinfestazioni) o accidentalmente (ad esempio, sversamenti in mare, incendi di impianti industriali). Tra queste, le sostanze di interesse ecotossicologico sono caratterizzate da:

- tossicità della sostanza parentale e/o dei suoi metaboliti;
- stabilità ambientale che conduce a persistenza e distribuzione ubiquitaria;
- biodisponibilità\*;
- bioaccumulo e biomagnificazione nelle catene alimentari.

Questi aspetti sono discussi di seguito.

## Destino e comportamento dei contaminanti - Esposizione

I contaminanti entrano negli ecosistemi attraverso l'immissione nelle acque superficiali, la contaminazione del suolo e lo scarico nell'atmosfera e si distribuiscono in diversa misura nei vari comparti biotici (piante, animali) e abiotici (acqua, aria, sedimento/soilo) che caratterizzano i singoli ecosistemi.

La concentrazione di una sostanza nei vari comparti ambientali (quella a cui gli organismi ivi presenti sono potenzialmente esposti) sarà determinata da una serie di fattori, sia intrinseci alla sostanza stessa che al sistema ricevente (a titolo illustrativo viene fatto riferimento ad un corpo idrico, Figura 1):

*emissioni* - tipo (puntiforme, quale uno scarico, o diffuso, quale il dilavamento di un terreno agricolo trattato con pesticidi), numero e carico;

*mobilità* - trasporto della sostanza nella sua forma disciolta o legata al particolato (con conseguente diluizione e diffusione nel comparto ricevente), deposizione di questa ultima frazione nei sedimenti e sua risospensione nella colonna d'acqua a causa di fenomeni di bioturbazione. La mobilità è descritta da modelli meccanici e statistici;

*distribuzione* - la tendenza a ripartirsi in un comparto piuttosto che in un altro è determinata dalle proprietà chimico-fisiche della sostanza ed è descritta da costanti di ripartizione. Le costanti più usate sono: il  $K_{OW}$  (coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua) che descrive la lipofilità di una sostanza e quindi la sua affinità per il biota, il  $K_{OC}$  (coefficiente di ripartizione carbonio organico/acqua) che descrive l'affinità verso

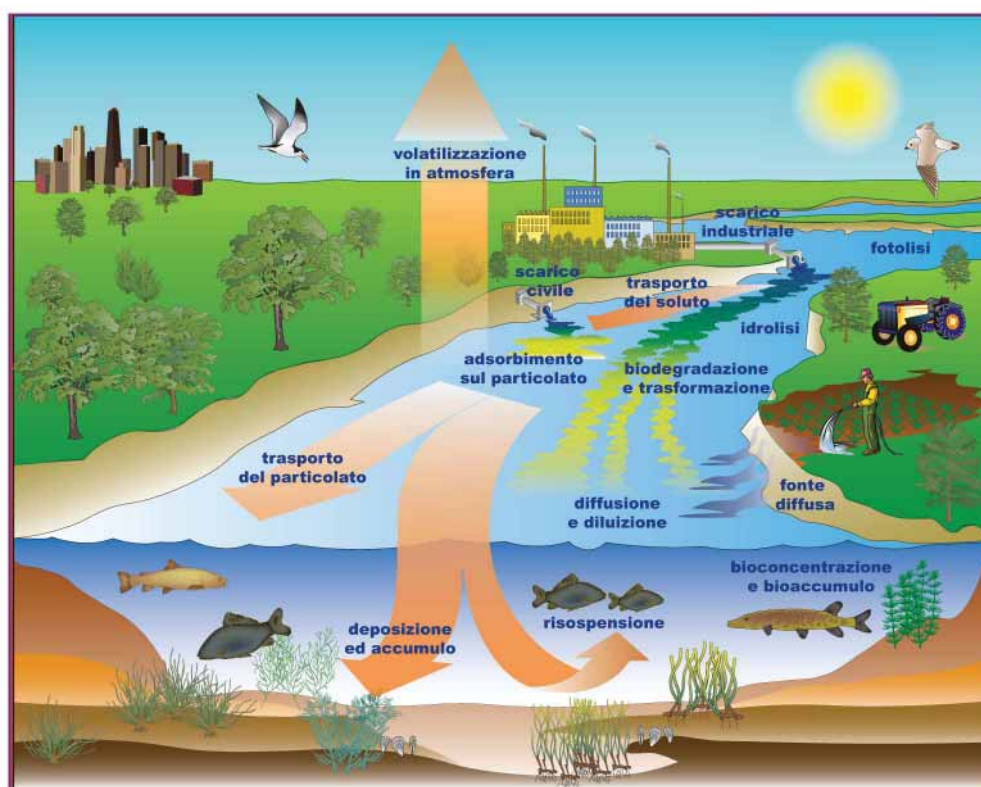


Figura 1 - Comportamento dei contaminanti nell'ambiente acquatico



il suolo, sedimenti e particolato e il  $K_{aw}$  (coefficiente di ripartizione aria/acqua) che descrive la tendenza a volatilizzare e migrare nel comparto aria. Per lo studio della distribuzione sono stati sviluppati modelli di compartimentalizzazione (MacKay, 1991); *persistenza* - la proprietà di una sostanza a permanere nell'ambiente è strettamente legata alle caratteristiche di degradabilità biotica, operata da microrganismi, ed abiotica, per degradazione chimica (idrolisi e ossidoriduzioni) o per azione della luce (fotodegradazione). Va comunque anticipato che, in alcuni casi, i prodotti di trasformazione (metaboliti) possono essere anche più tossici della sostanza di partenza, per cui una bassa persistenza della sostanza parentale non è necessariamente garanzia di basso rischio.

### *Sostanze persistenti*

L'esempio in Figura 1 illustra la contaminazione dell'asta di un fiume, quindi relativamente limitata nello spazio, ma sappiamo ormai da tempo che il trasporto di sostanze antropogeniche può avvenire a enormi distanze dalle aree di uso/immissione. Ciò vale soprattutto per le sostanze persistenti e con elevata mobilità (inquinanti organici persistenti – *Persistent Organic Pollutants*, POP), quali gli idrocarburi policiclici alogenati, che possono contaminare l'intero globo terrestre come conseguenza del trasporto oceanico e atmosferico a lungo raggio, caratterizzato da un alternarsi di fenomeni di deposizione ed evaporazione la cui relativa entità dipende dalla latitudine.

Un esempio di questo fenomeno è fornito dalla rilevazione di PCB (bifenili policlorurati) e insetticidi organoclorurati (ad esempio il diclorodifeniltricloroetano, DDT) in campioni di aria, ghiaccio e biota provenienti dalle regioni polari. In uno studio di monitoraggio del Canadian Wildlife Service, le concentrazioni di composti organoclorurati e di mercurio sono state misurate nelle uova di uccelli artici marini. L'analisi dei campioni di uova della specie *Uria lomvia*, raccolti tra il 1975 e il 2000, mostrano significativi livelli di PCB con una tendenza alla diminuzione durante il periodo di osservazione (da circa 0,3 a circa 0,1 mg/kg peso umido) e di mercurio, che invece ha registrato un incremento (da circa 0,6 a circa 1,2 mg/kg peso umido), analogamente a quanto osservato per il beta-esaclorocicloesano ([www.cws-scf.ec.gc.ca](http://www.cws-scf.ec.gc.ca)).

I PCB sono miscele commerciali di sintesi ampiamente usate in tutto il mondo, a partire dagli anni '30, come fluidi idraulici, come isolanti nel settore elettrotecnico, nella preparazione di vernici e carta carbone, e altro. La riduzione nella concentrazione di PCB nei campioni biologici può essere spiegata, almeno in parte, come la conseguenza di una ridotta esposizione ambientale, per merito di disposizioni legislative che progressivamente (in Europa a partire dagli anni '70) hanno imposto per queste sostanze speciali misure di smaltimento e di restrizione d'uso.

I PCB fanno ora parte della cosiddetta "sporca dozzina" di inquinanti organici persistenti (Tabella 1) messi al bando dalla Convenzione di Stoccolma (Protocollo UN/CEE, maggio 2001).

Come primo passo verso l'eliminazione totale delle emissioni di sostanze pericolose nel mare, la Commissione OSPAR (Oslo-Parigi) per l'ambiente marino del Nord-Est Atlantico<sup>1</sup> ha stilato una lista di sostanze prioritarie, selezionate tra quelle considerate potenzialmente pericolose (Tabella 2).

---

(1) La Commissione OSPAR per l'ambiente marino del Nord-Est Atlantico amministra l'omonima Convenzione, adottata nel 1992, in sostituzione della Convenzione di Oslo (1972), per la prevenzione dell'inquinamento marino a seguito di scarichi da navi e aeromobili, e della Convenzione di Parigi (1974) per la prevenzione dell'inquinamento marino da scarichi di sostanze pericolose da fonti terrestri, corsi d'acqua o condotte.



**Tabella 1** - Inquinanti organici persistenti (POP) banditi dalla Convenzione di Stoccolma (maggio 2001)

PCB  
DDT (parziale)  
diossine (dibenzo-p-diossine)  
clordano  
furani (dibenzo-p-furani)  
esaclorobenzene  
aldrin  
mirex  
dieldrin  
toxafene  
endrin  
eptaclor

**Tabella 2** - Sostanze prioritarie secondo la Commissione OSPAR per l'ambiente marino del Nord-Est Atlantico

idrocarburi poliaromatici (PAH)  
paraffine clorate a catena corta  
mercurio e i suoi composti organici  
cadmio  
piombo e i suoi composti organici  
composti organici dello stagno  
(compreso il TBT, usato nelle vernici navali)  
alcuni ftalati (dibutilftalato e dietilesilftalato)

A livello internazionale si va sempre più affermando il “principio cautelativo”: ridurre l’esposizione senza attendere la prova sicura di tossicità, particolarmente nel caso di sostanze persistenti o che tendano ad accumularsi.

### *Biodisponibilità*

La concentrazione totale, misurata o predetta, nei comparti ambientali può sovrastimare quella a cui gli organismi presenti sono effettivamente esposti. La biodisponibilità può essere definita come la “misura della frazione della sostanza nei media ambientali che è accessibile all’assorbimento da parte di un organismo” (ASTM, 1998). Per esempio, le sostanze che tendono a ripartirsi nei sedimenti spesso vi si concentrano fino a raggiungere livelli molto più alti di quelli presenti nella colonna d’acqua ma, essendo presenti sotto forma non biodisponibile, non producono effetti tossici, al contrario della forma disciolta in acqua che viene prontamente assunta dagli organismi.

La biodisponibilità, e di conseguenza la capacità di produrre effetti tossici, dei contaminanti associati ai sedimenti è influenzata da vari fattori legati alle

caratteristiche della sostanza, delle matrici ambientali, delle condizioni chimico-fisiche sito-specifiche e degli organismi che vi abitano. La tendenza di una sostanza ad adsorbirsi sulle particelle argillose o sulla materia organica la rende meno disponibile per l’assunzione da parte degli organismi ma, nel caso dei metalli, se il contenuto di ossigeno si abbassa (ad esempio, come conseguenza della degradazione della materia organica), la frazione che riveste le particelle viene rilasciata. In condizioni anossiche molti metalli reagiscono con solfuri prodotti da batteri e funghi per formare solfuri insolubili. Se il potenziale redox varia, il metallo dalla forma adsorbita o complessata viene rilasciato nell’acqua interstiziale in forma ionica biodisponibile. Alcuni batteri possono metilare alcuni metalli (Hg, As, Pb) a specie organiche più disponibili. La frazione biodisponibile dipende dal tipo di organismo e dalle sue abitudini alimentari. Per un anellide o per una larva di insetto che vive nei sedimenti un contaminante può essere assunto sia attraverso la cuticola (frazione disciolta nell’acqua interstiziale) sia con i solidi ingeriti (frazione legata); la biodisponibilità finale di una sostanza sarà determinata da fattori quali: presenza di altre sostanze nelle matrici di esposizione,

caratteristiche dell'acqua e dei sedimenti, tipo di organismo, via di esposizione, abitudini alimentari e, infine, dalla distribuzione della sostanza all'interno dell'organismo. Nelle prove condotte in laboratorio su campioni raccolti sul campo ulteriori fattori, che possono influenzare la biodisponibilità, sono le operazioni utilizzate per la raccolta, la conservazione e la manipolazione degli stessi.

### *Bioaccumulo/bioconcentrazione/biomagnificazione*

Il bioaccumulo è il processo mediante il quale una sostanza raggiunge all'interno di un organismo una concentrazione maggiore di quella presente nelle matrici ambientali a cui l'organismo è esposto, ed è la risultante dei processi di assunzione, immagazzinamento ed eliminazione, come discusso nel capitolo *Introduzione alla tossicologia* di Emanuela Testai. Se la concentrazione ambientale di esposizione rimane costante, la quantità di sostanza accumulata raggiunge una condizione di equilibrio dinamico. Mentre il bioaccumulo di alcuni nutrienti vitali (metalli essenziali, vitamine, amminoacidi, ecc.) è un processo fondamentale per tutti gli organismi, questo può rappresentare un fattore di rischio quando una sostanza antropogenica raggiunga nel corpo livelli tali da causare danni.

Il potenziale di bioaccumulo è una proprietà intrinseca fondamentale di un contaminante ambientale, descritta attraverso il coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua ( $K_{OW}$ ), responsabile del raggiungimento di concentrazioni anche elevatissime nei tessuti adiposi, dove si possono creare depositi a lungo termine. A seguito di utilizzo delle riserve lipidiche la sostanza può essere rilasciata in quantità tossiche e dare luogo a effetti tossici diretti, indiretti o ritardati. Va sottolineato comunque che la tendenza di una sostanza al bioaccumulo (definita in genere da valori di  $\log K_{OW} > 3$ ) non costituisce di per sé un rischio per gli organismi ma, se accompagnata a caratteristiche di tossicità e persistenza, può rappresentare un fattore di pericolosità molto importante.

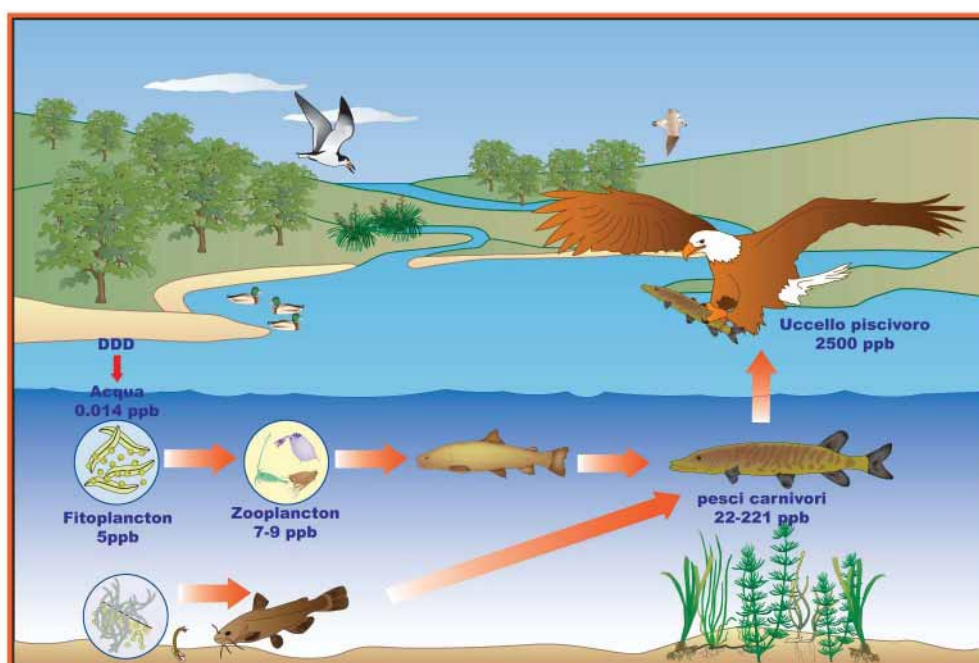
La capacità di una sostanza di accumularsi in un organismo acquatico è quantificata dal fattore di bioconcentrazione (BCF), che esprime il rapporto tra concentrazione della sostanza nell'animale e concentrazione nell'acqua, all'equilibrio. Quando si fa riferimento all'assunzione da varie matrici (acqua, cibo, sedimenti, ecc.) si usa il termine più generale "bioaccumulo", che esprime il rapporto tra concentrazione nell'animale e concentrazione nel mezzo di esposizione. In alcuni casi l'accumulo attraverso la catena trofica può risultare molto più rilevante di quello osservabile a seguito di contaminazione diretta dall'acqua. Ad esempio, in ecosistemi inquinati da PCB è stato osservato che l'accumulo per via alimentare da parte dello zooplankton è 30 volte maggiore di quello dall'acqua (Joaquim-Justo *et al.*, 1995). Infine, la sostanza accumulata da un organismo (preda contaminata) può trasferirsi attraverso la catena alimentare fino ai livelli trofici più alti (predatori apicali, uomo), dove può essere responsabile di avvelenamento secondario (indiretto) e/o accumularsi ulteriormente dando luogo a fenomeni di biomagnificazione, quantificata dal fattore di biomagnificazione (BMF, rapporto tra concentrazione della sostanza nel predatore e concentrazione nella preda).

Un esempio "storico" di sostanza bioaccumulabile è quello del DDT, che fu la prima sostanza organica sintetica usata in grande quantità come insetticida e la prima tra gli idrocarburi clorurati di cui si scoprirono gli effetti tossici collaterali. Come si osserva per molti inquinanti ambientali, anche i metaboliti della sostanza parentale possono essere pericolosi, in alcuni casi anche molto di più. Il diclorodifenil-dicloroetene (DDE) è un metabolita\* del DDT che si trova in piccole quantità nel

DDT tecnico ed è stato usato come pesticida. Nella Figura 2 i valori di bioaccumulo e biomagnificazione nella catena alimentare relativi al DDE sono riportati a titolo esemplificativo. Si osserva come il DDE, presente in acqua ad una concentrazione di 0,014 ppb, possa raggiungere una concentrazione di quasi 180.000 volte maggiore nel predatore apicale, in questo caso l'uccello. In uno studio condotto su diverse specie marine (macrofite, ricci, molluschi, pesci) i valori logaritmici di bioconcentrazione (log BCF) relativi a congeneri di PCB misurati nei tessuti del biota erano compresi tra 3,75 e 6,97 (Hope *et al.*, 1998).

### L'esempio del metilmercurio

Il metilmercurio è uno degli esempi che più si presta (e tra i più citati) nel trattare di cicli biogeochimici, di bioattivazione, di bioaccumulo, di tossicità. I suoi effetti sulla salute umana sono noti fin dagli anni '50, a seguito del noto incidente di Minamata (Giappone) nel quale centinaia di persone morirono a seguito di ingestione di pesci contaminati. Il ciclo biogeochimico del mercurio negli ambienti acquatici è molto complesso, in quanto questo microinquinante naturale può essere presente in varie forme: solfuro di mercurio, mercurio metallico, ione mercurioso, ione mercurio e metilmercurio. Quest'ultimo ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) è quello che riveste il maggiore interesse ecotossicologico, in quanto è un neurotossico e ha un elevato potenziale di bioaccumulo. Il metilmercurio si forma per biometilazione del mercurio inorganico divalente a opera di batteri solforiduttori presenti in ambienti anossici, quali i sedimenti, nei quali però non viene sequestrato a causa della sua bassa tendenza a legarsi al carbonio organico. Ne consegue che la sostanza rimane biodisponibile nei sedimenti e nella



**Figura 2** - Bioaccumulo e biomagnificazione di DDE (diclorodifenil-dicloroetene) in un ecosistema acquatico

colonna d'acqua, da cui può ritornare in atmosfera per volatilizzazione. Il metilmercurio si degrada per fotolisi e demetilazione, vie non sempre efficaci negli ambienti naturali. La contaminazione da mercurio è un fenomeno globale, da mettere in relazione con il generale inquinamento dell'aria a seguito delle attività umane più che a emissioni puntiformi. Il raggiungimento di concentrazioni tossiche di mercurio in pesci predatori presenti in aree remote, dove i livelli ambientali sono molto bassi, si spiega con l'elevata biomagnificazione del mercurio lungo la catena alimentare. Il bioaccumulo del metilmercurio, a differenza di quanto si osserva generalmente per i contaminanti organici, non è spiegato dalla sua lipofilicità, che è bassa ma, come nel caso di altri metalli, la sua complessità viene rivelata da modelli biodinamici. In questo caso, il bioaccumulo è dovuto alla capacità dello ione di legarsi stabilmente a gruppi tiolici (contenenti zolfo) di amminoacidi e proteine. Ne consegue che la frazione di accumulo è il tessuto muscolare e non la pelle o il grasso, come nel caso dei contaminanti organici, e che pertanto il consumo di pesce contaminato porta inevitabilmente all'ingestione del tossico presente.

### Ecosistema

Un ecosistema può essere definito come *un'entità funzionale costituita da una comunità di esseri viventi (biocenosi) e dal loro ambiente fisico e chimico (biotopo) che interagiscono strettamente attraverso la circolazione di materia e di un flusso continuo di energia*. La biocenosi ed il biotopo costituiscono la struttura dell'ecosistema, mentre il flusso di materia ed energia ne definiscono la funzione. Un ecosistema è efficacemente illustrato da una piramide ecologica, in cui si distinguono i diversi livelli trofici che costituiscono una catena alimentare (Figura 3).

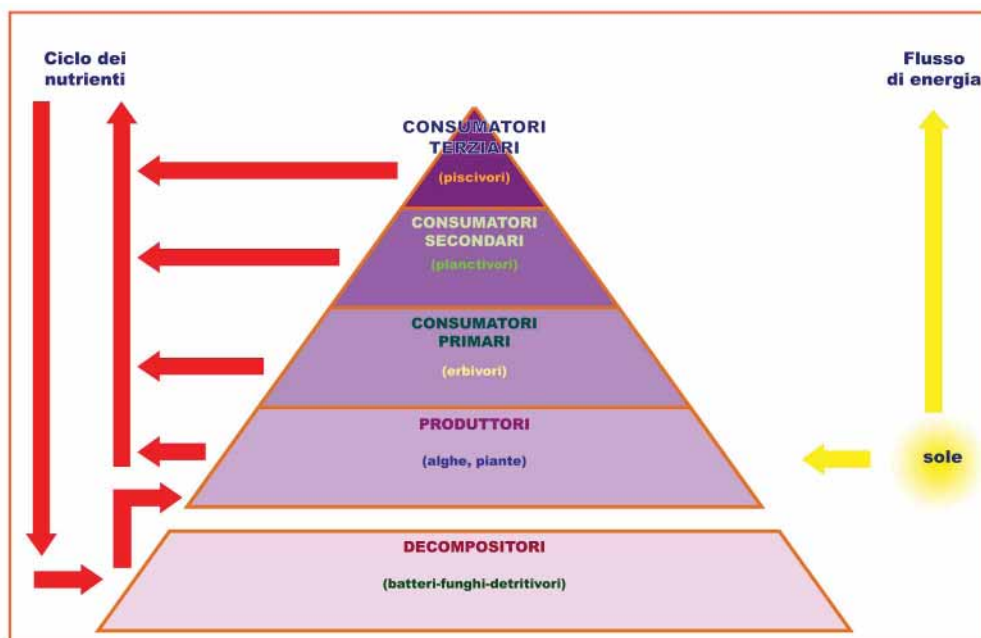


Figura 3 - Piramide ecologica di un ecosistema acquatico (rappresentazione schematica)

Alla base della piramide si trovano i produttori (organismi autotrofi, capaci di utilizzare l'energia solare e convertire i composti inorganici per produrre materia organica), a cui seguono i consumatori primari (erbivori), quelli secondari (planctivori) e al vertice i consumatori apicali (piscivori, uomo). Alla morte di questi organismi, la materia organica viene utilizzata dagli organismi detritivori e decomposta da microrganismi (quali batteri e funghi) che trasformano molecole organiche complesse in semplici nutrienti, i quali sono utilizzati dai produttori primari che li fanno così rientrare nel ciclo. Nel passaggio da un livello trofico all'altro si ha il trasferimento di materia ed energia, ma la forma a piramide è dovuta al fatto che questi trasferimenti non sono efficienti; infatti solo una piccola parte della materia e dell'energia di un livello trofico viene trasferita al livello successivo. In realtà, la dissipazione è tale che le piramidi ecologiche costruite con dati di ecosistemi naturali presentano spesso un andamento discreto a "scaloni" di ampiezza irregolare. Il principio comune a tutti gli ecosistemi è la necessità di una grande massa di organismi produttori per poter sostenere solo pochi consumatori apicali, quali predatori e uomo. Questo concetto è efficacemente espresso dall'esempio fornito da Tyler Miller (1971):

*"Per nutrire un uomo per un anno sono necessarie 300 trote. Le trote a loro volta devono consumare 90.000 rane, che devono consumare 27.000.000 di cavallette che si nutrono di 1.000 tonnellate di erba".*

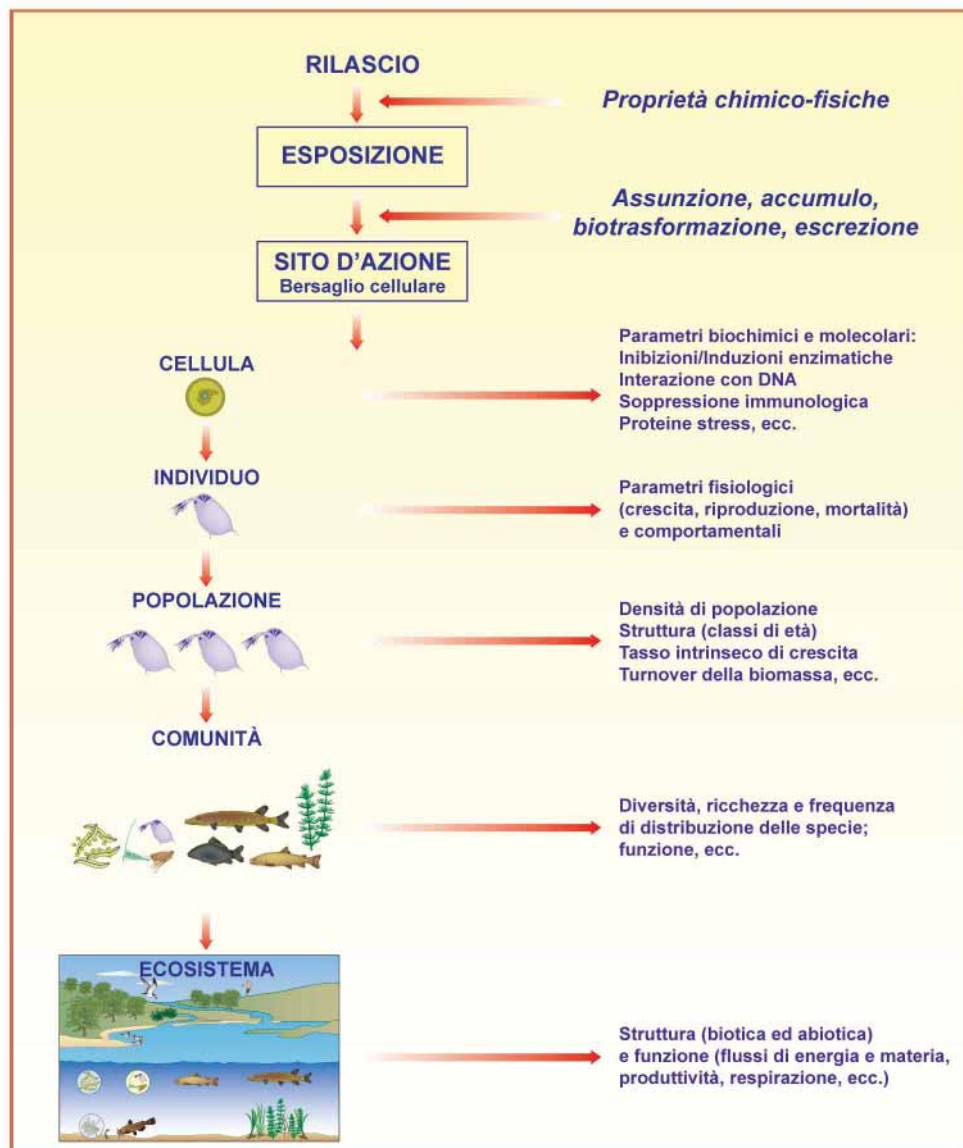
Una catena alimentare descrive una singola via che l'energia e i nutrienti possono seguire in un ecosistema. Nel caso di un ecosistema acquatico una catena alimentare può essere descritta da: alga-daphnia-pesce-uccello. Bisogna però sottolineare che tale esempio rappresenta un'estrema semplificazione della realtà, in quanto le interazioni tra livelli trofici sono molto più complesse tanto da essere descritte più adeguatamente dal termine "rete" trofica. Infatti, in un ecosistema le varie specie di un livello trofico possono interagire con quelle appartenenti a diversi livelli trofici e, inoltre, molti organismi occupano più di un livello trofico. È proprio tale complessità che rende l'ecosistema stabile.

### **Effetti tossici**

L'interesse ambientale di una sostanza dipende in primo luogo dalla sua tossicità intrinseca, ossia dalla sua capacità di causare un danno a un sistema biologico. Mentre la tossicologia umana si prefigge lo scopo di proteggere ogni singolo individuo (inclusi quelli più deboli e suscettibili), l'ecotossicologia mira a salvaguardare gli ecosistemi e, in generale, la biosfera. Pertanto, a differenza della tossicologia, che utilizza saggi condotti su poche specie modello (topo, ratto, coniglio, cane) per estrapolare i risultati all'uomo, l'ecotossicologia utilizza tradizionalmente saggi su specie rappresentative dei vari ecosistemi e dei diversi livelli trofici. Ad esempio, nella valutazione del rischio di sostanze che hanno la probabilità di contaminare l'ambiente acquatico, la comune base di dati minima è costituita da dati di tossicità su alghe, daphnia e pesce. Gli organismi scelti come specie modello sono quelle che associano alla rilevanza ecologica un'elevata sensibilità alle sostanze tossiche e per cui si dispone di metodologie sperimentali standardizzate.

È interessante notare che in ecotossicologia i processi di assorbimento/assunzione, distribuzione, (bio)degradazione e metabolismo (attivazione e detossificazione), che costituiscono la tossicocinetica, sono studiati a livello sia del comparto biotico sia di quello abiotico e delle interazioni tra i due comparti.

Una volta che la sostanza è stata assorbita dall'organismo e ha raggiunto il sito d'azione, gli effetti tossici possono essere valutati a vari livelli di organizzazione biologica (Figura 4).



**Figura 4** - Valutazione degli effetti ecotossicologici a seguito del rilascio di una sostanza nell'ambiente acquatico. Parametri misurabili ai diversi livelli di organizzazione biologica

Le prime alterazioni si osservano a livello (sub)cellulare e possono essere di natura biochimica (quali induzioni/inibizioni enzimatiche, sintesi di proteine "stress" con funzione protettiva), genotossica (ad esempio, formazione di addotti al DNA), immunologica, ecc. Le variazioni misurabili a livello cellulare in risposta a una con-



taminazione rappresentano altrettanti “biomarcatori”, che possono essere utilizzati come segnali precoci di esposizione e/o danno degli organismi, prima che gli effetti tossici si manifestino ai livelli di integrazione più elevati. Esempi noti da tempo sono l'induzione delle monoossigenasi (citocromo P 450) a seguito di esposizione a PCB e PAH (idrocarburi policiclici aromatici\*) e l'inibizione della acetilcolinesterasi in diversi gruppi di organismi acquatici dopo esposizione a pesticidi organosforici e carbammati (McCarty and Shugart, 1990, Doran *et al.*, 2001).

Se il danno a livello cellulare non è compensato/riparato dai meccanismi di regolazione e adattamento della cellula, l'effetto tossico sarà rilevabile a livello di individuo. Gli effetti tossici acuti si misurano in test dove gli organismi sono esposti per brevi periodi del loro ciclo vitale (tipicamente 48 e 96 ore per daphnia e pesce, rispettivamente) a concentrazioni letali del contaminante. Gli effetti cronici si valutano a seguito di esposizioni prolungate a concentrazioni subletali, che coprono gran parte del ciclo vitale dell'organismo (da minuti ad anni a seconda dell'organismo e del parametro fisiologico da indagare); gli effetti più comunemente valutati sono quelli sulla crescita, sulla riproduzione, sul comportamento e le alterazioni morfologiche. Le condizioni dei test cronici riflettono più da vicino le condizioni di esposizione ai contaminanti ambientali e pertanto forniscono informazioni più affidabili e realistiche sui loro possibili effetti a lungo termine.

A livello di popolazione i test prendono in considerazione parametri quali: densità, struttura per classi di età e sesso, tassi di crescita, turnover della biomassa. Le risposte osservate integrano pertanto tutti i possibili effetti su una specie durante il suo ciclo vitale, misurabili a livello di individuo singolo (van Straalen and Kammenga, 1998)

L'insieme delle popolazioni di specie diverse che vivono in uno stesso habitat prende il nome di *comunità*, ad esempio si parla di comunità bentonica per riferirsi alle popolazioni degli organismi che vivono associati ai sedimenti. A livello di comunità si valutano principalmente gli effetti sulla sua diversità, intesa come numero delle specie presenti e loro abbondanza relativa. La diversità è la risultante di effetti diretti sulle singole specie (ad esempio, la scomparsa di una specie o la diminuzione della densità di popolazione) e di effetti indiretti dovuti alle alterate interazioni tra le specie (ad esempio, il decremento di densità di popolazione di una specie, che rappresenta la principale fonte alimentare di una seconda specie o è in competizione con questa, si riflette su quest'ultima).

Al livello massimo di integrazione, si studiano gli effetti sulla salute dei sistemi ecologici nelle loro componenti strutturali e funzionali. A tale scopo sono utilizzati sistemi sperimentali complessi (microcosmi o mesocosmi\*, lotici\* o lentici\*) che mimano la complessità e le condizioni presenti nei sistemi naturali, sia in termini di composizione delle comunità sia delle componenti abiotiche. Vengono investigati gli effetti sulla struttura biotica e abiotica (livelli trofici, comunità, aspetti fisici, chimici, genetici, ecc.) e sulla funzione dell'ecosistema modello (catene trofiche, ciclo dei nutrienti, flusso di energia, produttività, ecc.).

I test ecotossicologici, condotti al fine di valutare il rischio di singole sostanze, sono condotti in laboratorio o, più raramente, in sistemi sperimentali posti all'aperto, e gli organismi sono esposti a una serie di concentrazioni del tossico. I test condotti in condizioni controllate e con protocolli standardizzati consentono di ottenere risultati riproducibili in quanto si eliminano molte (o alcune) delle variabili presenti negli ambienti naturali. Al crescere della complessità di organizzazione biologica



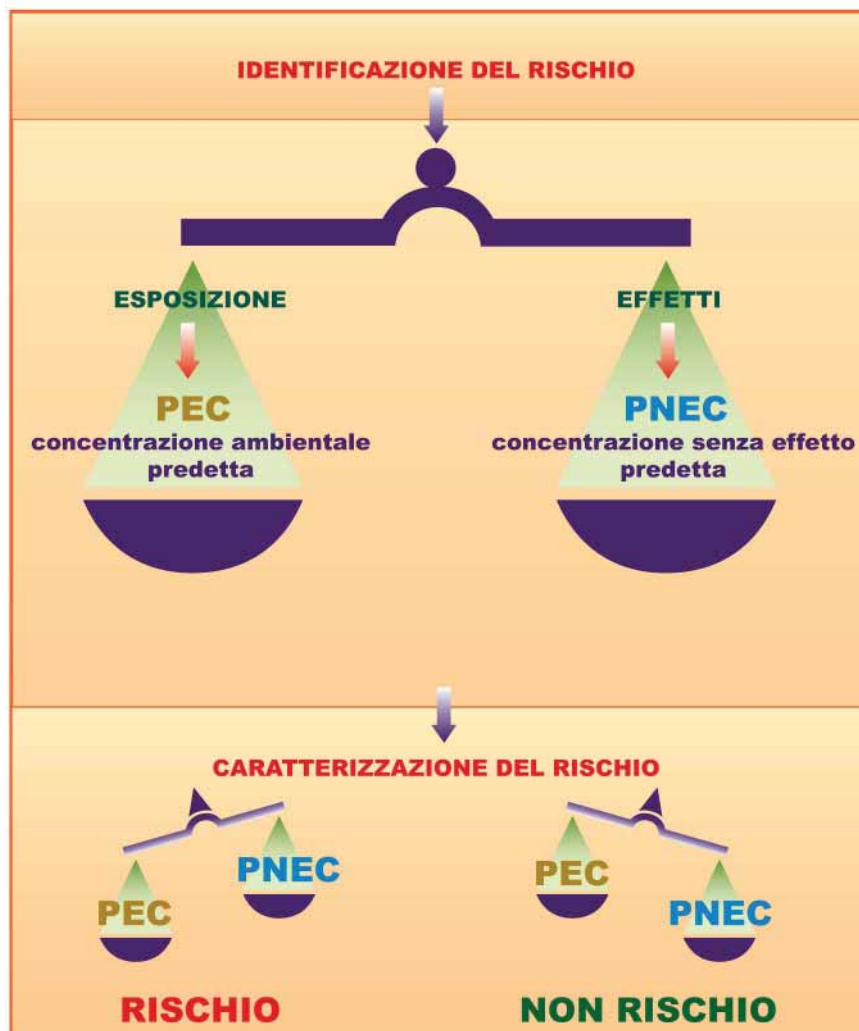
corrisponde una diminuzione di sensibilità del sistema utilizzato, di riproducibilità dei risultati e di semplicità delle procedure e, parallelamente, un aumento della rilevanza ecologica dei parametri misurati. Ad esempio, l'alterazione di un parametro biochimico, pur rappresentando un'importante risposta a un agente stressante quale un contaminante e svolgendo una importante funzione di allarme se misurata in un ambiente naturale, non consente di fare previsioni affidabili sui possibili effetti a livelli di integrazione superiori e pertanto non è utilizzabile direttamente nella valutazione del rischio ambientale. Per contro, i sistemi più complessi quali i mesocosmi, specialmente se mantenuti in condizioni "naturali" all'aperto, forniranno delle informazioni più realistiche ed ecologicamente più rilevanti, ma a costi molto più elevati e con livelli di variabilità nelle risposte che possono rendere l'analisi e l'interpretazione dei risultati difficoltosa.

### **Rischio ambientale**

In base a quanto discusso sopra, le caratteristiche che rendono una sostanza chimica di interesse ecotossicologico e ne identificano il potenziale rischio sono: tossicità (o possibilità di trasformarsi o degradarsi in sostanze tossiche), stabilità sia chimica sia ambientale (da cui derivano persistenza e ubiquitarità), biodisponibilità e bioaccumulabilità. Il processo di valutazione del rischio ambientale di una sostanza, quale che sia la sua natura o uso, tiene conto delle suddette proprietà nel definire i livelli di esposizione attesi nei vari comparti (aria, acqua, sedimenti, suolo, microrganismi negli impianti di trattamento delle acque reflue) e la tossicità nei confronti degli organismi che vi abitano, incluso il possibile avvelenamento secondario a seguito di ingestione di prede contaminate da parte di consumatori apicali (Figura 5).

Per il calcolo delle concentrazioni attese (PEC) si utilizzano, come accennato all'inizio di questa presentazione, modelli predittivi a cui si affiancano, se disponibili, dati di monitoraggio che consentono di raffinare le stime ottenute dai modelli. I dati di tossicità disponibili, in genere limitati a un piccolo numero di organismi saggiati in condizioni di laboratorio, sono utilizzati per predire le concentrazioni di non effetto per gli organismi (PNEC). L'assunzione che sottende a questa pratica è che la protezione della struttura dell'ecosistema (in particolare dei suoi organismi più sensibili) implica anche la protezione della sua funzione. Per tenere conto dell'incertezza associata con la stima della PNEC, che è tanto maggiore quanto più piccola e meno affidabile/realistica è la base di dati di cui si dispone (vedi sezione precedente), si applicano fattori di sicurezza, opportunamente scelti, ai risultati più sensibili dei test ecotossicologici.

Le procedure di valutazione del rischio sono regolamentate da direttive europee specifiche a seconda che si tratti di pesticidi usati in agricoltura, biocidi o sostanze di uso industriale, ma l'approccio comune è quello di ottenere, in ultima analisi, una stima quantitativa del probabile rischio per le comunità esposte. Il rischio per gli organismi di un comparto ambientale è considerato accettabile quando le concentrazioni di esposizione predette della sostanza in esame sono inferiori alle concentrazioni predette senza effetto per gli organismi di quel comparto. Viceversa, se l'esposizione risulta maggiore, il rischio non si può escludere e pertanto si valuta la possibilità di ottenere stime di esposizione e di effetti più realistiche, attraverso l'esecuzione di ulteriori prove di laboratorio e/o di campo. La caratterizzazione del rischio è quindi un



**Figura 5** - Processo di valutazione del rischio di una sostanza chimica

processo iterativo; se, dopo le procedure di raffinamento delle PEC e PNEC, la probabilità di rischio risulta ancora inaccettabile si prendono in considerazione possibili misure di mitigazione del rischio e limitazioni d'uso. Un esempio comune nel caso di pesticidi è, in caso di rischio per l'ambiente acquatico, l'imposizione del rispetto di una zona di "non trattamento" adiacente a un corpo idrico.

### Un caso studio - La vicenda del fiume Sacco

Nel marzo del 2005 i media sono tornati a parlare di rischi da inquinamento ambientale, in occasione della contaminazione di alcuni allevamenti zootecnici della valle del fiume Sacco, più volte salita alla ribalta della cronaca. L'analisi dei campioni di latte ovino e bovino rivelava concentrazioni di beta-esaclorocicloesano ( $\beta$ -HCH) molto maggiori dei limiti consentiti (79 e 21 volte maggiori, rispettivamente).

Il  $\beta$ -HCH è un isomero dell'esaclorocicloesano e fa parte della miscela di isomeri utilizzata nella sintesi del lindano, un pesticida molto pericoloso il cui uso è stato limitato dal 1975 e vietato dal 2001. Il  $\beta$ -HCH è l'isomero più persistente alla degradazione chimica e biologica e si accumula nelle specie vegetali e nel grasso degli animali. Il fattore di bioconcentrazione del  $\beta$ -HCH nella daphnia raggiunge il livello di 350, inoltre la biomagnificazione lungo la catena alimentare conduce a concentrazioni nel pesce sino a 1000 volte maggiori di quella presente nella daphnia. Il  $\beta$ -HCH viene eliminato nel latte; misure di monitoraggio mondiale effettuate nel latte materno (negli anni '90) hanno rilevato la presenza della sostanza nei campioni di quasi tutti i Paesi, mettendo però in evidenza enormi differenze nei livelli di concentrazione. In particolare, in India e Kazakistan si sono registrati valori elevatissimi (9.000 e 2.200 ng/g grasso nel latte, rispettivamente) di gran lunga superiori a quelli rilevati in Germania e Regno Unito (al di sotto di 100 ng/g). Negli animali l'esposizione cronica provoca lesioni epatico-renali, immunodepressione e ipofertilità; nell'uomo si sospetta attività cancerogena.

I risultati delle indagini condotte dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana ([www.epicentro.iss.it/formazione/profea/pdf\\_2005/19-Sala\\_Miceli.pdf](http://www.epicentro.iss.it/formazione/profea/pdf_2005/19-Sala_Miceli.pdf)) hanno confermato l'ipotesi della presenza di una sorgente primaria di contaminazione (sito industriale), responsabile dell'inquinamento delle acque e della conseguente contaminazione dei foraggi per l'alimentazione animale coltivati vicino al fiume Sacco e/o irrigati con le sue acque, al cui consumo è da attribuire la non conformità del latte esaminato. La contaminazione del fiume è stata spiegata da un'esposizione pregressa al  $\beta$ -HCH, dovuta alla presenza nell'area di Colferro di una ditta produttrice di lindano, rimasta attiva fino agli anni '80 e dalla sua elevata persistenza ambientale.

### Riferimenti bibliografici

American Society for Testing and Materials. *Standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation test with the lumbricid earthworm Eisenia foetida*. E 1676-97. Philadelphia, PA: ASTM; 1998.

Doran, WJ, Cope WG, Rada, RG, *et al.* Acetylcholinesterase inhibition in the threeridge mussel (*Amblema plicata*) by Chlorpyrifos: implications for biomonitoring. *Ecotoxicol Environ Safety* 2001;49:91-8.

Forbes VE, Forbes TL. *Ecotoxicology in theory and practice*. London: Chapman & Hall; 1994.

Joaquim-Justo C, Gosselain V, Descy JP, *et al.* Relative importance of the trophic and direct pathways on PCB contamination in the rotifer species *Brachionus calyciflorus* (Pallas). *Hydrobiologia* 1995;313/314:249-57.

Hope B, Scatolini S, Titus E. Bioconcentration of chlorinated biphenyls in biota from the north Pacific Ocean. *Chemosphere* 1998;36(6):1247-61.

Mackay D. *Multimedia environmental models. The fugacity approach*. Chelsea (MI): Lewis Publisher; 1991.

McCarty JF, Shugart LR. *Biomarker of environmental contamination*. Boca Raton: CRC Press; 1990.

Moriarty F. *Ecotoxicology. The study of pollutants in ecosystems*. London: Academic Press, Inc.; 1983.

Van Straalen NM, Kammenga JE. Assessment of ecotoxicity at the population level using demographic parameters. In: Schöörmann G, Markert B (Ed.). *Ecotoxicology: ecological fundamentals, chemical exposure and biological effects*. Chichester: Wiley and Sons; 1997. p. 621-43.

### **Lecture consigliate**

Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA Jr, *et al.* (Ed.). *Handbook of Ecotoxicology*. Second Edition. Boca Raton: Lewis Publishers; 2003. p. 1290.

National Research Council. *Bioavailability of contaminants in soils and sediments. Processes, tools, and applications*. Washington, DC: The National Academy Press; 2003.

Newman MC. *Fundamentals of ecotoxicology*. Chelsea (MI): Ann Arbor Press; 1998.

Odum EP. *Basi di ecologia*. Padova: Piccin Nuova Libreria; 1988.

Vighi M, Bacci E. *Ecotossicologia*. Torino: UTET; 1998.

## LA FABBRICA DELLA CONOSCENZA SCIENTIFICA

Alessandro Giuliani

*Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

A conclusione del corso, vorrei parlare di qualcosa che, da una parte, esula dallo specifico delle sostanze chimiche e della tossicità e, dall'altra, ne è alla base. Vediamo quindi come tutto ciò che è stato argomentato dagli interventi precedenti sia generato e cosa comporti in termini di azioni che vengono intraprese. Spero di riuscire a darvi un'idea su come difendersi rispetto alla massa di notizie selvagge che ci giungono, in particolare per quanto riguarda la scienza, del tipo: "scoperto il gene\* dell'intelligenza", "trovata la cura definitiva per...", "ecco perché ci innamoriamo".

Difendersi significa disporre di un minimo di strumenti per separare le cose buone o rilevanti da quelle che invece non lo sono. Questo è importante soprattutto per i ragazzi. Per farlo si può esaminare come la conoscenza scientifica venga fabbricata e i motivi per cui si è arrivati a una crisi nella fabbrica. In questo caso il termine "crisi" va inteso nel senso originario, cioè dal greco "passaggio": come mai stiamo passando da un tipo di costruzione della conoscenza ad un altro.

Vi racconterò come sia stata fabbricata la conoscenza scientifica finora e come, in gran parte delle situazioni, ancora lo sia.

Vediamo, innanzitutto, cosa significa costruire una nuova conoscenza ricollegandoci al tema principale dell'incontro, cioè alla tossicologia.

Cosa faccio per vedere se una sostanza è pericolosa per le persone?

Prendo due gruppi di individui con le stesse caratteristiche, identici in tutto e per tutto, che si differenziano soltanto per l'uso della sostanza di cui voglio osservare l'effetto. Questo approccio viene detto nel gergo dei metodologi "ipotesi controfattuale". Prendiamo, per esempio, i tanti studi fatti, soprattutto negli Stati Uniti, per isolare l'effetto della razza; in questo caso vengono considerati un gruppo di bianchi e un gruppo di neri americani con stili di vita pressoché identici, l'unica differenza è il colore della pelle. È abbastanza comprensibile come sia praticamente impossibile fare questo studio in maniera rigorosa: dovremmo immaginare dei neri che guadagnino come i bianchi, vivano negli stessi quartieri, mangino le stesse cose, ecc. Studiare l'effetto delle sostanze chimiche è un po' più facile ma è ancora praticamente impossibile per le popolazioni umane; è un po' più semplice sugli animali da esperimento ed è per questo che si usa il laboratorio. Allora procedo così: prendo due ceppi di ratti che suppongo essere identici, li assortisco casualmente da una parte e dall'altra, ai primi (gruppo A) somministro la sostanza di cui voglio provare la tossicità e agli altri (gruppo B) un placebo (ad esempio, acqua).

Il secondo passaggio è dimostrare, in maniera plausibile, che nel gruppo B, che ha come unica differenza rispetto al gruppo A ciò che voglio controllare, la misura che ho fatto è differente da quell'altra. Se, ad esempio, voglio misurare la tossicità dovrò rilevare che i membri del gruppo A muoiono più degli altri; se voglio misurare la cancerogenicità dovrò dimostrare che questi si ammalano di tumore più degli altri.

Una volta che l'ho provato potrò dire: l'aumento dipende dall'esistenza di "X". Non si tratta di un effetto confondente, qualcosa di cui non ho tenuto conto quando ho fatto la separazione, ma è proprio ciò che voglio provare, la causa di questo effetto.

- **Avere un modello condiviso (A) di come andrebbero le cose se lo stato del mondo fosse lo stato reale "diminuito" dell'ente X (questa è quella che i metodologi chiamano "ipotesi controfattuale")**
- **Dimostrare in maniera plausibile che le cose sono andate in maniera B, *sensibilmente* diversa da A**
- **Rendere necessario il legame tra il non avverarsi di A e l'esistenza di X**

Questa procedura storicamente è stata abbastanza efficiente fino a quando si sono studiati effetti molto grandi (ad esempio, il fumo di sigaretta), ma ha smesso di funzionare nel caso di effetti meno eclatanti, quando la causa non è stata più una singola sostanza ma tanti piccoli elementi messi assieme. Ogni singolo elemento causale è di per sé quasi trascurabile, ma la combinazione di più elementi può creare grandi problemi. Questo tipo di modello è ancora per gran parte in auge, perché funziona da duecento anni, ma ora comincia a non funzionare più. Vediamo perché questo accade facendo un esempio pratico.

Cerchiamo di schematizzare in forma di domande e risposte la procedura delineata prima.

Prima domanda: il composto X altera la probabilità di sviluppare la malattia Y, in altre parole questa sostanza cambia la probabilità di avere il tumore piuttosto che qualsiasi altro tipo di malattia?

#### **Domande**

- 1) Cosa? (Il composto X altera la probabilità di sviluppare la malattia Y?)
- 2) A chi? (In chi la assume per inalazione per motivi di lavoro)

#### **Risposte**

- 1) Di quanto la altera rispetto alla variabilità naturale
- 2) In quali condizioni il modello si applica

Seconda domanda: a chi? Perché questa probabilità non cambia in generale, ma solo in chi assume una certa dose, per una determinata via, magari per inalazione o altro. Queste si chiamano "condizioni al contorno", comprendono tutti quei fattori che provocano il contesto di quello che sto osservando e che sono spesso più importanti della causa iniziale.

La risposta alla prima domanda allora non sarà: il composto X causa il tumore. Bensì: il composto X aumenta il rischio di contrarre il tumore rispetto alla variabilità naturale. Mi aspetto che a qualcuno venga quella malattia e che a qualcun altro non venga indipendentemente dall'assunzione della sostanza. L'unico effetto misurabile della sostanza è a livello di popolazione modificando qualcosa di quella variabilità, di quell'imponderabile, di quella casualità comunque presente.

La risposta alla seconda domanda è: in quali condizioni questo modello si applica. Aver trovato una volta che il composto X alteri la variabilità naturale non significa che la alteri sempre; la altera solo in certe condizioni.

Facciamo un esempio al di fuori della tossicità, la cancerogenicità o altro. È un esempio costruito con dati fasulli, non ho mai condotto questo studio ma è strutturato secondo lo stesso schema introdotto per la tossicità.

### Domande

- 1) Il livello di istruzione altera la probabilità del ricorso a qualche forma di psicoterapia?
- 2) A chi? Nelle donne romane tra i 30 ed i 50 anni di età.

La nostra prima domanda in questo caso sarà: il livello di istruzione altera la probabilità del ricorso a qualche forma di psicoterapia?

Seconda domanda: (a chi?) nelle donne romane tra i 30 e i 50 anni di età.

Se avessimo a disposizione denaro e tanta pazienza potremmo evitare di fare ricorso alla statistica. Infatti, a oggi, la popolazione delle donne romane tra i 30 ed i 50 anni di età è una popolazione molto grande ma assolutamente definita, quindi potrei domandare a tutte queste donne se hanno mai fatto ricorso alla psicoterapia. Alcune mi risponderanno con sincerità, altre magari mi mentiranno, non lo so, ma posso domandarlo a tutte. Per misurare il loro livello di istruzione potrei chiedere: quanti anni sei stata a scuola? Un'indicazione forse un po' grossolana: sappiamo che la cultura non dipende dal numero di anni di scuola frequentati, ma ci possiamo accontentare di questa approssimazione che si avvicina a quest'idea dell'istruzione (gli statistici chiamano queste approssimazioni *proxy*: bisogna sempre tenere a mente che il loro valore si situa solo a livello di grandi collettivi e non a livello individuale). Dopo aver fatto numerose interviste otterremo due classi di risultati: coloro che hanno risposto "Non ho mai avuto bisogno della psicoterapia" (appartenenti alla classe "NO PSIC") e coloro che sono ricorsi alla psicoterapia (appartenenti alla classe "PSIC"). Accanto ai nomi delle donne intervistate vengono riportati gli anni di studio.

Non avendo a disposizione finanziamenti che consentano di interrogare tutte le donne, seleziono il gruppo in maniera il più possibile casuale. Questo perché non posso pensare di tenere sotto controllo tutti i fattori confondenti. Ad esempio, un fattore confondente ovvio è avere il denaro per pagare la psicoterapia, visto che solitamente costa parecchio. Quindi, dovrei pensare a donne con la stessa situazione economica, che abitano in uno stesso quartiere, o che hanno certe tradizioni culturali. Visto e considerato che sono talmente tante le cose da tenere presente, noi statistici cerchiamo, in situazioni del genere, di prendere soggetti numerosi e casualmente. Si cerca semplicemente di attenuare le possibili differenze; prendendole in modo casuale è difficile che da una parte siano capitate tutte donne ricche e dall'altra parte tutte quelle povere.

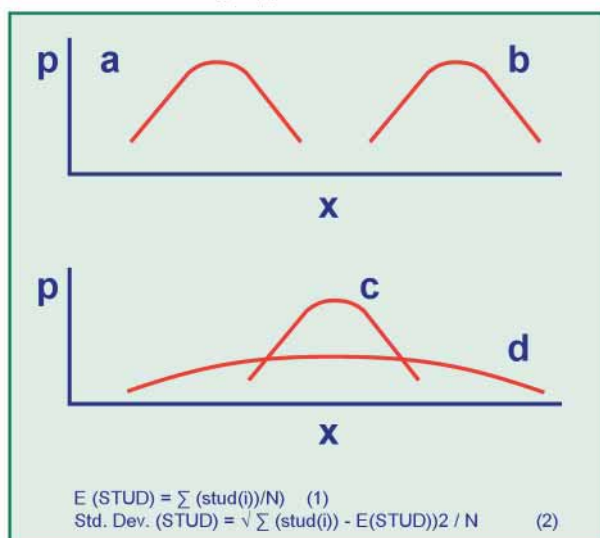
I risultati ottenuti non possono essere esaminati uno per uno e ho pertanto bisogno di qualche "riassunto" significativo: per prima cosa calcolo una media. Vediamo, allora, la formula della media riportata nella Figura 1 dove la lettera E sta per aspettativa matematica, che è poi la media.

La media degli anni di studio, che sono la nostra misura dell'istruzione, è data allora dalla sommatoria di tutti gli anni di studio - le variabili - diviso per il numero



degli individui. Questo rapporto mi dice la media del gruppo "PSIC" e quella del gruppo "NO PSIC".

L'altra informazione importante è la variabilità naturale. I soggetti dentro i diversi gruppi non sono tutti uguali. Quanto differiscono dalla media? Se prendo una persona a caso in questo gruppo non sarà necessariamente uguale alla media, ma di quanto mi aspetto che sia diversa? Questa è semplicemente la sommatoria della differenza per ognuna di queste signore tra gli anni di studio effettivamente svolti e la media del loro gruppo.

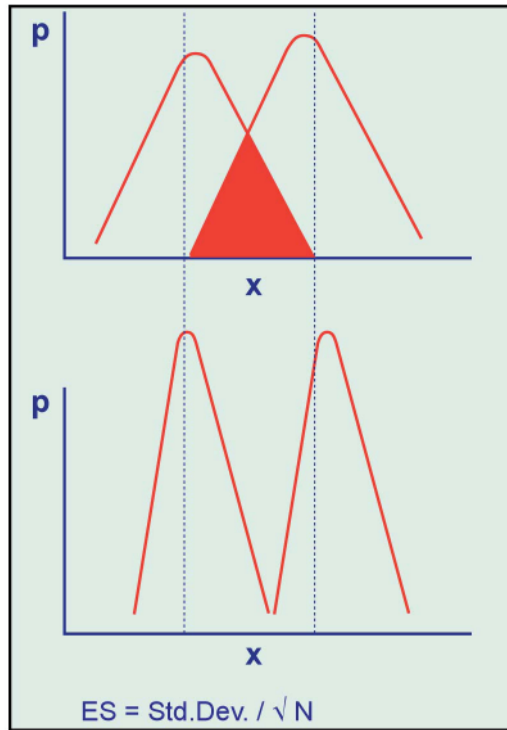


**Figura 1** - Nel pannello superiore sono riportate due distribuzioni (a, b) con media molto diversa (posizione della campana lungo l'asse delle ascisse) e varianza (larghezza della campana) molto simile. Nel pannello inferiore due distribuzioni (c, d) con identica media e varianza molto differente. L'equazione 1 esprime la media, l'equazione 2 la deviazione standard che corrisponde alla radice quadrata della varianza

Se le due popolazioni fossero completamente diverse quanto ad anni di studio, le curve sarebbero separatissime (Figura 1, curve a e b) e questo perché anche le più illetterate della popolazione "PSIC" avrebbero studiato di più della signora più studiosa del gruppo "NO PSIC". Oppure la situazione potrebbe essere come descritto nella Figura 1, curve c e d: la media è assolutamente la stessa; le due distribuzioni hanno il centro nello stesso punto, ma mentre una è molto stretta, l'altra è molto variabile. Prendiamo in considerazione per esempio la ricchezza media nella popolazione di Bangalore e di Cologno Monzese. Probabilmente a Bangalore alcuni sono ricchissimi e altri poverissimi mentre a Cologno Monzese la struttura di ricchezza è più o meno simile in tutta la popolazione. La media può anche essere la stessa, ma non posso considerare la situazione di Bangalore uguale a quella di Cologno Monzese perché, nel caso di Bangalore, esistono grosse disparità economiche che a Cologno Monzese non sono presenti.

Conoscere la media di un qualcosa, vuol dire semplicemente che ho una descrizione a livello di popolazione, ma la media non è l'unico aspetto di una popolazione perché le differenze individuali sono un altro aspetto ugualmente importante. Posso immaginare altre situazioni di maggiore o minore sovrapposizione come descritto nella Figura 2, man mano che l'area di sovrapposizione fra le due popolazioni si allarga (area nera in Figura 2). La mia sicurezza sulla separazione dei due gruppi scompare: la formula nella Figura è molto simile a quella della variabilità naturale o deviazione standard, solo che qui abbiamo un'insidiosa divisione per la radice di N, dove N è il numero di casi.

Lo scopo del "gioco" dello scienziato è di far vedere che l'effetto della cultura, se misuro gli anni di studio, in qualche modo mi permette di separare l'andare o



**Figura 2** - Nel pannello superiore sono riportate due distribuzioni con una rilevante area di sovrapposizione (scura). Nel pannello inferiore sono riportate le due stesse distribuzioni (le due linee verticali indicano le medie) quando riferite ad un campionamento più ampio. Nel caso inferiore l'area di sovrapposizione scompare e le due distribuzioni appaiono significativamente diverse

Al limite, con  $N$  che tende a infinito, questo diventa talmente minuscolo che qualsiasi differenza è statisticamente significativa. Ciò significa che con un numero sufficientemente rilevante di dati posso dimostrare scientificamente qualsiasi "baggianata". Significa che quando porto le cose all'infinito diventa tutto una "burletta".

Il trucco si nasconde nella formula dell'errore standard (ES) riportate in Figura 2, in quella divisione per radice di  $N$ . Esiste una teoria matematica, assolutamente vera e fondata, detta legge dei grandi numeri (o teorema di Chebyshev) che dimostra inequivocabilmente che se prendo dei campioni finiti da una popolazione infinita, più grande sarà la numerosità dei campioni, più simili le loro medie (le medie interne dei campioni) saranno tra loro e più vicine alla media vera della popolazione. Allora, chiaramente, una differenza piccola tra due campioni molto grandi "varrà" di più della stessa differenza osservata in campioni piccoli per il semplice fatto che in questi ultimi è più probabile che questa differenza sia avvenuta per caso. Tutto assolutamente ragionevole, ma tutto lievemente folle se lo applichiamo ai casi reali... vediamo perché.

La differenza fondamentale fra la matematica e la scienza è che mentre la matematica dimostra le cose passando all'infinito (cosa succede per  $N$  che tende a infinito?) la scienza è invece il regno del finito; quindi tirando le cose all'infinito in

meno dallo psicoterapeuta, in maniera superiore rispetto alla variabilità naturale, cioè alla dispersione della curva rappresentata in Figura 2.

Se il campione è grande come tutta la popolazione romana, se prendo in esame tutti i dati, il mio campione è identico alla popolazione romana *tout-court*. Immaginiamo che le signore PSIC abbiano in media 13,1 di anni di studio e le NO PSIC ne abbiano 12,5, per cui sono diverse. Ma sono *rilevantemente* diverse? Sinceramente non mi sembra una grossa differenza da prendere in considerazione. Quello che conta è che più è grande il campione più la variabilità dello stesso - attenzione, non la variabilità naturale ma quanto il campione differisce dalla popolazione - diminuisce. Questo è abbastanza ovvio perché se il campione diventa molto grande da approssimare tutta la popolazione, rappresenta esattamente la media. Ma questo non significa che ho un dato più rilevante, significa solo che mi avvicino alla situazione della popolazione. Poiché la deviazione standard, che è un numero finito, è diviso per la radice di  $N$  con  $N =$  il numero di casi, se questo numero diventa molto grande, l'intero rapporto diventa molto piccolo.

matematica arriviamo alla profondità logica, in scienza arriviamo al mondo dell'assurdo. Se prendo un numero sufficientemente grande di soggetti posso dimostrare, ad esempio, che chi ha i capelli ricci è più antipatico di chi ha i capelli lisci. Posso dimostrare le cose che più mi divertono. Posso dimostrare che chi ha i tacchi alti è meno intelligente di chi ha le espadrillas. Poiché qualsiasi misura che faccio non è assoluta (lo stesso uso di un metro, o di un microscopio con una certa precisione fa sì che ho sempre una piccolissima differenza anche se misuro sempre lo stesso oggetto), qualsiasi piccola differenza è resa significativa dal fatto che faccio crescere N fino a infinito, quindi posso dimostrare con assoluta significatività statistica qualsiasi cosa. Tutto ciò è poi suffragato da una rilevante sperimentazione. Qualsiasi dato, se N è abbastanza grande, è statisticamente significativo. È di fondamentale importanza assimilare bene questo concetto in quanto è un vaccino potente contro lo scientismo e l'idolatria della scienza.

Torniamo però al nostro caso. Come potete immaginare i valori relativi agli anni di studi non sono continui. Tranne che per coloro che lasciano a metà una scuola, più o meno abbiamo 5 anni per chi ha fatto le elementari, 8 anni per chi ha fatto le elementari e medie, 13 anni circa per chi ha fatto anche le scuole superiori, 17 o 20 per chi ha preso una laurea. Per il momento comunque noi la trattiamo come se fosse una misura continua.

La media del gruppo "PSIC" è 13,9, la deviazione standard (cioè la variabilità naturale) è 4,49. Questo significa che se prendo una persona del gruppo PSIC mi posso aspettare che sia differente da 13,9 più o meno di 4 anni e mezzo. La media del gruppo "NO PSIC" è 10,87 e la deviazione standard è più o meno simile, sempre di 4 anni e mezzo. Quindi, visto e considerato che ho osservato una differenza di 3,03 tra le medie dei due gruppi, la prima cosa che mi viene in mente è che si tratta di poca cosa, è più o meno la stessa differenza dalla media che trovo all'interno del gruppo se prendo una persona a caso e la confronto con la media. Tutto

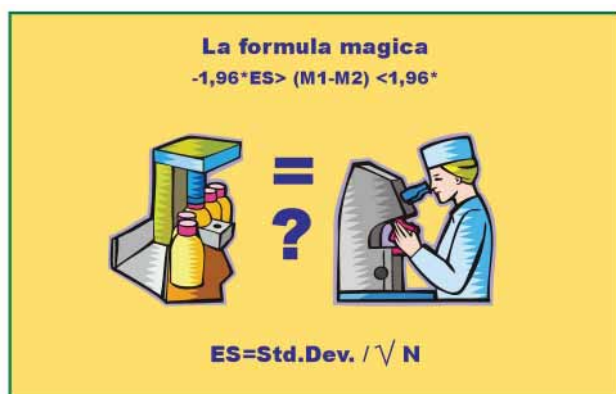
#### Descrittori statistici effettivamente osservati

- Media (PSIC) = 13,9, SD (PSIC) = 4,49
- Media (NO PSIC) = 10,87, SD (NO PSIC) = 4,55
- ES = 0,8, Differenza fra le medie = 3,03
- N (PSIC) = 36, N (NO PSIC) = 31

è molto ragionevole ed è quello che normalmente faccio, ma non è scientifico, e non lo è perché sono oppresso dall'idea di quale sarebbe stato il vero risultato se avessi preso in esame tutta la popolazione. E allora divido per la radice di N (36+31 il totale delle mie osservazioni) il risultato è 0,8. A questo punto, per magia, questa differenza assolutamente irrilevante diventa statisticamente significativa perché 0,8, cioè l'errore standard, è molto più piccolo di 3,03, la deviazione standard.

In Figura 3 vediamo la "formula magica" chiamata "t di Student" che decide se una differenza fra due medie è significativa. M1 è la media del campione uno (PSIC), M2 è la media del campione due (NO PSIC); 1,96 è il quantile al 5% di questa curva che si chiama t e che approssima la curva gaussiana o normale, ed

ES è l'errore standard. *Student*, studente, era lo pseudonimo usato dall'ideatore del sistema, William Gossett, un signore che lavorava alla Guinness, una fabbrica irlandese di birra. Gossett aveva un problema molto specifico: abbiamo questa fabbrica di birra che funziona bene, però se le quantità relative di malto e luppolo vanno fuori controllo la birra a volte diventa cattiva, quindi ogni tanto, a campione, dovremmo prendere un po' di birra e vedere se le cose stanno procedendo bene perché, se le cose andassero male, sarebbe necessario interrompere la produzione,



**Figura 3** - A sinistra vediamo una catena di imbottigliamento della birra, a destra un microscopio a scansione a simboleggiare, rispettivamente, il mondo del controllo di qualità e quello della ricerca. Il passaggio dal primo al secondo non è per nulla scontato

ne, vedere cosa è successo e magari cambiare il fermentatore. Chiaramente Gossett non poteva bere tutta la birra e poi decidere se era buona. Quindi non poteva esaminare tutta la popolazione delle birre Guinness e provarle, doveva prenderne un piccolo campione e decidere, a partire da quel campione. Allora, per bilanciare la necessità di fare sufficienti controlli e non fermare troppo spesso, ma neanche troppo poco spesso la produzione, tirò fuori sperimentalmente quella distribuzione da cui abbiamo tratto quei

magici numeri della formula. Semplicemente provando e riprovando Gossett si accorse che fermare la produzione di birra quando la probabilità di fermarla inutilmente è del 5% (su 100 volte che la fermo, 95 volte ho fatto bene a fermarla e 5 volte no) era la scelta economicamente più vantaggiosa per la Guinness. Questo criterio, con relativamente semplici calcoli matematici, corrispondeva ad un valore della distribuzione della variabile di interesse (ad esempio, concentrazione di malto, per noi anni di studio) opportunamente trasformata (essenzialmente sottratta della sua media e divisa della sua variabilità) pari a 1,96 (come appare dalla formula). Un grande storico della matematica, Morris Klein, ha scritto un libro bellissimo nel quale ha dimostrato che la matematica che ha funzionato meglio è sempre stata quella nata da esigenze pratiche (Klein, 1984).

Così, partendo da un'esigenza molto pratica, Gossett ha trovato il sistema ottimale per fare questo lavoro. Ma è comunque da considerarsi un sistema ottimale in una situazione molto diversa come quella della ricerca?

Nella Figura 3 è schematizzato uno strumento rappresentativo della scienza di punta: il microscopio a scansione, un sistema avanzatissimo di indagine della materia. Alla Guinness sappiamo che la misura da prendere deve essere soltanto una, e cioè la concentrazione relativa di malto e luppolo. Ma quando esamino con il microscopio a scansione, o con qualsiasi altro apparecchio moderno un determinato pezzo di mondo, posso vedere ventimila cose e, a questo punto, basta forse che una sola di queste sia diversa dall'atteso per dire che ho fatto una scoperta? Se è così, la probabilità non è più quella di sbagliare

5 volte su 100. Se misuro una cosa sola la probabilità di sbagliare 5 volte su 100 è un rischio accettabilissimo, ma se invece di fare una sola misura ne faccio 200 mi aspetto di sbagliare più o meno 10 volte. Quindi, più cose misuro, più la probabilità di sbagliare aumenta.

Non solo, ma se basta che una osservazione sia significativa per essere presa per buona...be' allora siamo nella pura invenzione. Ma questo è quello che stabilisce l'inferenza statistica e fin tanto che gli effetti sono abbastanza grandi questo metodo funziona. Finché sono grandi e le domande sono abbastanza semplici; quando cominciano a non esserlo più la formula magica passa alla magia nera.

Ultimamente è uscito un articolo bellissimo sull'argomento (Ioannidis, 2005) che spiega perché la maggior parte dei risultati della ricerca sono falsi, e lo fa con alcuni ragionamenti sulla formula che abbiamo commentato prima (test di Student).

L'articolo dice più o meno che se sto provando un antiipertensivo non importa che la pressione sia diminuita del 2% a quelli che lo hanno preso perché comincia ad essere rilevante per la salute diminuirla del 30%. Lo scopo non è capire se il farmaco produce un effetto significativo sulla pressione, ma se il paziente sta meglio. Allora, in questo caso, si ha una probabilità di indovinare dell'80%. Nel caso del *Discovery Oriented Exploratory Research with Massive Testing*, il tipo di studi che viene normalmente propagandato nei telegiornali (un tizio con il camice dice: nel nostro laboratorio abbiamo scoperto una grande speranza per l'umanità...), la probabilità che la scoperta sia vera è del 20%. Ciò significa che nell'80% dei casi quel tizio sta dicendo una sciocchezza, il che non è poi tanto male se ci pensiamo con calma. Il 20% è parecchio, ma è possibile la verifica solo sul lungo periodo, ossia sulla scala in cui poi le cose che non hanno dato frutti vanno a cadere e quelle che invece sono effettivamente buone vanno avanti. La scala lunga vuol dire venti, trent'anni, non vuol dire sei mesi. Quindi, quando sentite quelle dichiarazioni, sappiate che per l'80% è una bufala.

Ora, questo non sarebbe un problema se gli scienziati non fossero così tanti. Il sistema di indovinare solo il 20% delle volte è stato sostenibile fintanto che gli scienziati erano pochi, quindi non si accumulavano troppe sciocchezze. Quando gli scienziati cominciano a diventare tanti il carico di sciocchezze diventa insostenibile. Non solo, l'errore diventa ancora più pervasivo perché quando a fare queste dichiarazioni sono dei gruppi considerati molto importanti ("dall'Università di Stanford hanno detto che...") la gente li segue di più. Avviene quello che gli esperti della formazione chiamano "effetto Proteo": improvvisamente tutti si innamorano di qualcosa, fanno tanta ricerca e dopo un po' tutto scompare, non c'è più, semplicemente perché faceva parte di quell'80%, la premessa iniziale era semplicemente errata.

Le persone che adesso si occupano di organizzazione della scienza sono molto preoccupate per questo perché, oltre a far perdere molti soldi, la scienza perde molta credibilità. È un problema serio che si cerca di risolvere anche da un punto di vista metodologico; si cerca di andare avanti superando l'ottima trovata di William Gossett (test di *Student*) per adattarla ad una situazione completamente cambiata; non si misura una cosa sola ma ventimila, a poco prezzo posso fare tante analisi e quel metodo eccezionale, che ci ha permesso di andare molto avanti per tanti anni, mostra ormai la corda (Ioannidis, 2005).

Bisogna quindi passare dall'immagine di scienziato, Einstein, a quella di Bugs Bunny, uno scienziato molto più adatto ai nostri tempi. Einstein ha fatto grandi cose, però ci ha rovinato la piazza - non per colpa sua, ma della pubblicità che gli è stata fatta attorno - perché ha fatto passare l'idea dello scienziato come colui che dà la formula definitiva ( $E = MC^2$ ). Quanti di voi sanno cosa significa? Neanche io lo so bene, però è talmente importante che ci sembra un po' il fondamento della conoscenza e assumiamo che sia vera. Einstein lavorava in un'epoca nella quale gli scienziati erano un gruppo molto ristretto e nel quale tante persone misuravano una sola cosa alla volta. Nella nostra epoca, invece, la scienza è diventata un'attività di massa e non si sa più cosa guardare, non ci sarà mai la formula sulla biologia di alcunché perché si tratta di sistemi complessi; nessuno troverà un  $E = MC^2$ , non dico quando uno si occupa di un organismo completo, ma anche quando studia una sola proteina. Figuriamoci un ecosistema.

Bugs Bunny, invece, va molto meglio, basta ricordare come vince le sfide con il suo nemico, sia esso Willy il coyote o Yosemite Sam che si fa mandare dall'Acme degli strumenti complicatissimi (i razzetti sotto i piedi o le bombe), tecnologicamente molto avanzati che, proprio perché complicati, sono spesso soggetti ad errori. Lui, invece, cosa fa? Solitamente si salva facendo dei buchi nel terreno, oppure travestendosi o sfruttando la vanagloria di chi gli sta davanti, comunque tirando sempre fuori dei trucchetti semplici e locali, cioè che si applicano in un piccolo intervallo di tempo e poi si buttano. Nella situazione attuale probabilmente questa è la strategia da attuare. Vi do indicazione di un sito nel quale insieme ad altri colleghi approfondiamo questo argomento: <http://www.dis.uniroma.it/farina/semplice>

Nel 2000 è stato pubblicato un articolo di un premio Nobel (per la meccanica quantistica) dove si dice: "La scienza, come la conoscevamo, è definitivamente morta. Abbiamo la teoria del tutto che non ci serve a spiegare nulla. Ricominciamo daccapo e utilizziamo, non delle formule che spiegano tutto, ma delle piccole soluzioni locali alle cose che via via ci si presentano" (Klein, 2000).

Vi consiglio vivamente di leggere questo articolo, tra l'altro scritto in modo molto chiaro, in quanto ha un significato cruciale per comprendere il senso di tante cose che toccano direttamente la nostra vita.

### Riferimenti bibliografici

Klein M. *Storia del pensiero matematico*. Einaudi; 1984.

Klein M, Laughlin RB, Pines D. The theory of everything. *PNAS* 2000;97(1):28-31.

Ioannidis JPA. Why most published research findings are false. *Plos Medicine* 2005;2:124-8.





## **I LAVORI DELLE SCUOLE**



## ALCUNI PERCORSI DIDATTICI

Silvia Giannella

*Liceo Classico "Virgilio", Roma*

Non è stato facile proporre l'argomento "Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi" agli studenti del II anno del biennio sperimentale Brocca del Liceo Classico "Virgilio" in quanto il rischio che si correva era quello di presentare la solita lamentazione sullo stato dell'ambiente in un'ottica di ecologismo da luogo comune.

La sperimentazione Brocca, partita ormai diversi anni fa, doveva sostituire gli attuali Liceo classico, scientifico, scientifico-tecnologico, linguistico e altri. Nella mia scuola esistono vari indirizzi sperimentali; io insegno nel Classico e nello Scientifico sperimentali. Il progetto Brocca prevede un maggior numero di discipline e quindi di ore; per evitare la frammentazione eccessiva delle discipline e l'appesantimento dell'orario è opportuno lavorare in modo interdisciplinare o attraverso l'istituzione di aree di progetto, trattando temi trasversali a più discipline (per es. il tempo, il viaggio) o attraverso le codocenze in cui due insegnanti di discipline diverse sono presenti contemporaneamente in classe per un'ora a settimana e svolgono una didattica nuova affrontando un determinato tema da due punti di vista diversi ma integrando in una visione d'insieme le loro specificità.

Nell'anno scolastico 2005-2006 abbiamo svolto il progetto sulle sostanze chimiche nell'ambito di una codocenza biologia-geografia (1 ora a settimana) nelle due classi del II anno del biennio sperimentale, una a indirizzo classico e una a indirizzo scientifico. Con le colleghe di Geografia delle due classi abbiamo proposto agli studenti sia l'argomento sia le metodologie didattiche cooperative che intendevamo adottare.

Partendo dalla codocenza biologia-geografia, già sperimentata nell'anno precedente, abbiamo iniziato presentando ai ragazzi il lavoro svolto l'anno scorso con un'altra classe su "A tavola con i microrganismi: spunti per un'azione didattica"; abbiamo anche illustrato le metodologie utilizzate nell'anno precedente che erano basate sull'apprendimento cooperativo. A questo punto abbiamo chiesto il punto di vista degli studenti, sollecitandoli a esprimere le loro proposte, sulla base dei loro interessi e delle loro esperienze.

Riporto di seguito alcune indicazioni degli studenti:

- le sostanze tossiche, nocive ed inquinanti e la loro distribuzione sul pianeta; esame e messa a confronto dei dati dell'inquinamento prodotto dai paesi sviluppati e da quelli sottosviluppati;
- le relazioni che esistono tra tasso d'inquinamento e quantità di sostanze tossiche presenti nel territorio in una determinata zona, prendendo in considerazione lo sviluppo sociale e culturale della zona stessa;
- l'aumento percentuale di alcune malattie in determinate zone colpite da radioattività;
- conseguenze ambientali dell'industrializzazione nei paesi in via di sviluppo, la globalizzazione;
- esposizione a sostanze tossiche, sostanze radioattive sprigionate dallo scoppio della bomba atomica a Hiroshima e Nagasaki;

- l'assunzione di farmaci e l'esposizione a sostanze tossiche;
- studio delle conseguenze per l'ambiente e per la salute umana delle sostanze tossiche in ogni continente e confronto con le notizie acquisite;
- l'impatto di sostanze chimiche di alcune industrie su determinate aree geografiche;
- catastrofi naturali dovute all'inquinamento umano.

Uno studente, sentito il racconto sulle modalità utilizzate nell'anno precedente ha proposto di partire dal seguente problema: "Uno studente ha perso un amico per lo tsunami e vuole sapere se l'uomo contribuisce con l'inquinamento alle catastrofi naturali".

Questo è stato il nostro punto di partenza. Dopodiché, noi insegnanti abbiamo elaborato il progetto di codocenza (vedi riquadri 1 e 2), abbiamo suddiviso la classe in gruppi formati da studenti con diversi livelli di abilità, quindi ci siamo dedicate a seguire il lavoro dei gruppi sia in classe sia in aula multimediale; gli alunni continuavano poi il lavoro a casa, sia in gruppo sia individualmente.

Avendo già da alcuni anni sperimentato questo tipo di metodologia, posso dire che inizialmente l'organizzazione del lavoro con i gruppi è stata veramente molto difficile. Nel corso degli anni è stato possibile affinare la tecnica per la formazione dei gruppi e per rendere efficace la modalità di lavoro, evitando la dispersione e la perdita di tempo; inoltre è stato necessario porre la dovuta attenzione alla valutazione del lavoro di gruppo e dei singoli. In ogni caso la sperimentazione di queste nuove metodologie e l'opportunità di trovare un'alternativa alla lezione tradizionale mi hanno aiutato a crescere come insegnante e a stabilire un rapporto più gratificante con gli alunni.

Siamo partiti dall'esame del Protocollo di Kyoto e di come esso sia stato recepito o rifiutato da vari paesi quali l'Italia, la Germania, gli Stati Uniti d'America e la Russia. Gli studenti hanno dovuto procurarsi, come al solito, le informazioni, hanno lavorato in gruppo ed è stato costituito un supergruppo: un componente di ciascun gruppo ha scambiato informazioni con il rappresentante di ciascuno degli altri gruppi per preparare il lavoro da illustrare all'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Ma il lavoro forse più interessante svolto in questa classe è stato il *role-play* sulla questione della TAV, la linea ferroviaria ad alta velocità. Abbiamo individuato alcuni punti di vista significativi (le Istituzioni, gli ambientalisti italiani, gli ambientalisti francesi, gli scienziati, gli abitanti della Val di Susa). Ogni gruppo ha sorteggiato il suo ruolo, ha approfondito un determinato tema e si è preparato per argomentare in modo documentato e per difendere la propria posizione in una specie di processo rappresentato all'ISS alla fine dell'anno scolastico.

Nell'altra classe, la 5° B il percorso, intitolato "Le sostanze chimiche: dai disastri ambientali alla sigaretta", ha comportato lo studio di alcuni importanti casi di inquinamento sia in Italia (Seveso e Porto Marghera) sia in altre parti del mondo (Bhopal, India), letti attraverso le specifiche situazioni geografiche. Nella seconda parte dell'anno ci siamo occupati del fumo delle sigarette a partire da un problema secondo il metodo PBL (*problem-based learning*) proposto dalle insegnanti (riportato a pag. 141). Gli studenti, divisi in gruppi, hanno approfondito i seguenti temi: l'inquinamento dell'aria nelle città, le sostanze nocive contenute nelle sigarette, il fumo passivo, gli effetti del fumo di tabacco sulla salute, problemi legati alla dipendenza (fisica e psicologica), la sigaretta nella società (film, libri, fumetti, canzoni). Anche in questo caso il lavoro è stato illustrato all'ISS. Completano questo intervento le relazioni degli studenti delle due classi coinvolte.

Alla fine, gli studenti sono stati valutati sia per il lavoro svolto in gruppo sia individualmente e nelle singole discipline. Ho potuto notare che adottando questa metodologia didattica i risultati della valutazione tendono a essere migliori, perché

generalmente lo studio effettuato in gruppo rende il lavoro più produttivo in quanto i singoli alunni si sentono maggiormente responsabili sia verso gli insegnanti che verso il resto del gruppo. Inoltre questa modalità di lavoro mi ha permesso di introdurre anche nella lezione frontale degli spunti di didattica di tipo attivo, quali, per esempio, proporre al termine di una lezione una piccola indagine sulla comprensione di un argomento. Nonostante mi definisca un'insegnante aperta, per cui i ragazzi possono rivolgermi tutte le domande tranquillamente, i risultati di questa indagine mi hanno stupito. Infatti qualche volta è successo che metà della classe ha indicato (nel questionario anonimo!) di non aver compreso lo stesso argomento, il che mi ha fatto capire di non aver spiegato con sufficiente chiarezza quell'argomento e di non aver ricevuto richieste di chiarimenti; tutto questo non sarebbe emerso in modo così evidente utilizzando il metodo di insegnamento tradizionale.

#### Riquadro 1

### PROGRAMMA GEOGRAFIA-BIOLOGIA

Classe VB (2° anno biennio classico Brocca)  
Proff.sse: Aquilina Ticchi e Silvia Giannella  
Anno scolastico 2005-2006

**Contenuti:** Studio di alcuni importanti casi di inquinamento sia in Italia (Seveso e Porto Marghera) che in altre parti del mondo (Bhopal, India); sostanze tossiche e cancerogene: danni all'ambiente e all'uomo. Il fumo: sostanze nocive contenute nelle sigarette; il fumo passivo; problemi legati alla dipendenza (fisica e psicologica). Sostanze nocive presenti nell'aria delle città

**Tempi:** 1 ora a settimana di copresenza

**Modalità di lavoro:** ricerca e acquisizione di informazioni in gruppi cooperativi; produzione di elaborati sia scritti sia informatici; scambio di informazioni tra i gruppi

**Risorse:** laboratorio multimediale

**Strumenti di valutazione:** interrogazioni orali; prove scritte a risposte aperte o chiuse; relazioni sull'attività dei gruppi

Un altro importante elemento che caratterizza questo tipo di lavoro è rappresentato dall'apertura della scuola verso il mondo esterno: andare a presentare una relazione all'ISS significa poter comunicare all'esterno i risultati di un approfondimento svoltosi nella scuola. Inoltre, nel lavoro di gruppo, se si tratta di un vero lavoro cooperativo, i ragazzi devono rispettare il punto di vista altrui e rimettere in discussione le proprie opinioni.

Questo tipo di metodologia permette anche di acquisire nuove competenze ai tre diversi attori in causa: i docenti, che non sono più i soli nella classe ad avere risposte per ogni domanda o per ogni problema ma diventano dei coordinatori di un lavoro svolto dai gruppi; gli alunni diventano attivi nell'apprendimento e propongono essi stessi gli argomenti che poi approfondiscono, dovendo rispondere in ogni momento delle scelte fatte; gli esperti dell'ente esterno – in questo caso l'ISS – diventano divulgatori che si mettono in relazione con i loro interlocutori i quali, dopo aver approfondito l'argomento proposto, ne diventeranno a loro volta relatori.

## Riquadro 2

### PROGRAMMAZIONE GEOGRAFIA-BIOLOGIA

Classe VI (2° anno biennio scientifico Brocca)  
Proff.sse : Laura Vietti e Silvia Giannella  
Anno scolastico 2005-2006

**Obiettivi didattici:** l'obiettivo primario consiste nella conoscenza dell'impatto che le sostanze chimiche hanno sull'ambiente mondo; a partire dall'esame del Protocollo di Kyoto si studieranno i vari contesti ambientali analizzando le situazioni maggiormente a rischio inquinamento; conoscere i concetti di base della tossicologia (dosi, relazione dose-risposta, effetti, meccanismi d'azione); conoscere il concetto di rischio e come ridurre i rischi per l'ambiente

**Obiettivi formativi:** formare cittadini consapevoli attraverso l'acquisizione di nuove competenze scientifiche e geografiche; favorire l'integrazione tra conoscenze scientifiche e sapere comune; conoscere tematiche di grande interesse sociale e scientifico; acquisire una modalità di lavoro cooperativo; acquisire la capacità di lavorare in modo interdisciplinare; acquisire l'abilità di eseguire una ricerca (internet) valutando autonomamente e criticamente le informazioni scientifiche; produrre materiale di rielaborazione (relazioni, CD-ROM)

**Programma:** il Protocollo di Kyoto e i vari contesti geografici; l'ambiente fisico, politico, economico dei contesti geografici oggetto di studio; habitat e industrializzazione; aspetti demografici e antropici; le diverse forme di inquinamento dell'ambiente: aria, acqua, suolo; definizione di sostanza tossica; definizione di cancerogeno ambientale; i principali cancerogeni e il loro meccanismo d'azione; quali comportamenti adottare per ridurre il rischio; suscettibilità individuale: perché rispondiamo diversamente all'azione di sostanze tossiche?; l'amianto in Val di Susa: il problema del treno ad alta velocità (TAV)

**Tempi:** 1 ora a settimana di copresenza

**Modalità di lavoro:** ricerca e acquisizione di informazioni in gruppi cooperativi; produzione di elaborati sia scritti sia informatici; scambio di informazioni tra i gruppi

**Risorse:** laboratorio multimediale

**Strumenti di valutazione:** interrogazioni orali; prove scritte a risposte aperte o chiuse; relazioni sull'attività dei gruppi

Infine, un altro aspetto positivo consiste nella scelta di tematiche che offrano un forte aggancio con la realtà e siano in grado di suscitare il cosiddetto conflitto cognitivo: solo in questo modo gli alunni si troveranno di fronte a un reale stimolo ad apprendere.

## L'ALTA VELOCITÀ IN VAL DI SUSÀ: UN PROBLEMA AMBIENTALE O GEOPOLITICO?

**Docenti:** Silvia Giannella, Laura Vietti

**Scuola:** Liceo Classico "Virgilio", Roma

**Classe:** secondo anno biennio sperimentazione Brocca, indirizzo scientifico

**Discipline coinvolte:** biologia, geografia

### Obiettivi didattici

- Acquisizione di conoscenze relative all'impatto di sostanze chimiche sull'ambiente mondo;
- acquisizione di concetti di base della tossicologia;
- acquisizione del concetto di rischio e di riduzione del rischio ambientale;
- approfondimento, attraverso materiali eterogenei (interviste, articoli di giornali, spettacoli teatrali e cinematografici), delle tematiche studiate negli aspetti geografici, economici e antropici.

### Obiettivi formativi

- Formazione di cittadini consapevoli attraverso l'acquisizione di nuove competenze scientifiche e geografiche;
- integrazione tra conoscenze scientifiche e sapere comune;
- conoscenza di tematiche di grande interesse sociale e scientifico;
- acquisizione di una modalità di lavoro cooperativo;
- acquisizione della capacità di lavorare in modo interdisciplinare;
- acquisizione dell'abilità di eseguire una ricerca (internet) valutando autonomamente e criticamente le informazioni scientifiche;
- rielaborazione e produzione di materiale (relazioni, CD-ROM).

### Relazione degli studenti

La decisione di occuparci di ambiente è nata dalla necessità di coniugare argomenti di geografia e biologia durante le ore di copresenza. Durante l'anno abbiamo approfondito argomenti quali il protocollo di Kyoto e il problema TAV (treno ad alta velocità).

Il protocollo di Kyoto è un documento che ha lo scopo di diminuire le emissioni di gas nocivi da parte dei Paesi sviluppati. È stato approvato nel corso della Convenzione Quadro sui cambiamenti climatici tenutasi in Giappone nel 1997. Nel protocollo sono elencati i Paesi e i relativi impegni di limitazione delle emissioni di gas-serra. Entro il 2008/2012 ci dovrà essere una riduzione di almeno il 5% in media delle emissioni rispetto ai livelli del 1990. La risposta al protocollo non è stata omo-



genea; alcuni Paesi si sono trovati in difficoltà nel ridurre le emissioni (ad esempio, l'Italia), altri l'hanno inizialmente approvato ma poi non ratificato (Stati Uniti), altri ancora hanno gestito il problema senza difficoltà (Germania).



La TAV invece è un progetto di linea ferroviaria che dovrebbe collegare Kiev (Ucraina) a Lisbona (Portogallo) toccando le maggiori città d'Europa, tra cui Torino e Lione.

Il progetto TAV ha suscitato un dibattito molto acceso nel nostro Paese perché coinvolge diversi interessi e realtà: di qui la scelta di approfondire l'argomento per acquisire maggiori informazioni. Per analizzare tutte le differenti esigenze, in gran parte contrapposte fra loro e per evidenziare ogni aspetto della

questione TAV abbiamo pensato di organizzare una sorta di gioco di ruoli e di dividerci in 5 gruppi, ognuno rappresentativo di un interesse in gioco. I 5 gruppi erano: istituzioni, abitanti della Val di Susa, scienziati, ambientalisti francesi e ambientalisti italiani. Ogni gruppo aveva il compito di informarsi mediante la lettura di giornali, libri, riviste, articoli su Internet, al fine di raccogliere gli elementi necessari a sostenere la propria tesi. In effetti è accaduto che ogni gruppo si è convinto sempre più delle proprie ragioni contribuendo, così, a rendere la discussione molto interessante e coinvolgente.

I dibattiti sul progetto TAV sono nati essenzialmente per questi motivi:

- la presenza nelle montagne della Val di Susa di amianto e uranio, perché l'esposizione a queste sostanze, anche se non legata ad attività lavorative, procura gravi patologie. Non ne è però accertata la quantità e se sono presenti nel tragitto della galleria;
- la difficoltà a poter intervenire nel caso si verificano incidenti, come nel caso del Monte Bianco, visto che la galleria sarà lunga più di 20 km;
- la probabile mancanza di fondi per completare il progetto: il 40% dei costi totali sono stati stanziati dall'Unione Europea e dallo Stato italiano, il restante 60%, che doveva essere investito da privati interessati ai guadagni che porterebbe l'opera, non sussiste;
- l'inquinamento acustico per tutta la durata dei lavori (stimata in 15 anni) e quello ambientale per quanto riguarda le emissioni di CO<sub>2</sub> e il rischio di danneggiamento o distruzione di falde acquifere, importanti per il nostro Paese.

Le parti a favore della costruzione della TAV (istituzioni e ambientalisti francesi) sostengono che:

- la vecchia linea ferroviaria anche se potenziata non avrebbe la stessa efficienza della TAV;
- la nuova linea ridurrebbe sensibilmente il traffico su gomma, che è un problema attuale per la valle;
- esistono dei mezzi per trattare l'amianto che ne ridurrebbero le emissioni del 25%. Questi macchinari sono utilizzati nel versante francese dove l'amianto è presente in minori quantità.

Completata la raccolta di informazioni abbiamo poi fatto delle prove per il "processo". I gruppi a turno hanno esposto ciò che avevano appreso dalla ricerca sotto la guida di un moderatore che aveva il compito di dare la parola.

Ad ogni prova abbiamo corretto i testi e perfezionato l'esposizione in modo tale da rispettare i tempi e da renderla meno pesante.

È arrivato il giorno del convegno organizzato dall'Istituto Superiore di Sanità, eravamo preparati e infatti il risultato è stato soddisfacente: al momento della discussione ufficiale ogni gruppo aveva completato il suo lavoro, che nel complesso è stato apprezzato sia per i contenuti sia per la capacità di sintesi.



Gli studenti del Liceo "Virgilio" di Roma relatori del convegno presso l'Istituto Superiore di Sanità

Il metodo di lavoro applicato è stato valutato in maniera positiva da tutti poiché è riuscito a coinvolgere maggiormente la classe spingendo ognuno, all'interno e all'esterno dei singoli gruppi, a impegnarsi nel raccogliere informazioni e a confrontarsi con le altre posizioni. D'altro canto, il gruppo in quanto tale, è un mescolarsi di idee che spesso possono essere in contrapposizione tra loro: questo rende qualche volta questo metodo abbastanza dispersivo.

### Fonti

- <http://it.wikipedia.org>
- <http://www.legambiente.it>
- <http://www.notav.it>
- <http://www.repubblica.it>
- <http://www.corriere.it>
- <http://www.regione.piemonte.it>
- <http://www.governo.it>
- <http://europa.eu>

### Punto di vista delle insegnanti

Il progetto TAV, attuato nelle ore di copresenza geografia-biologia, ha suscitato notevole interesse e buona partecipazione tra gli alunni sia per la forma di gioco di ruolo in cui è stato svolto, sia per l'attualità dell'argomento. Per quanto riguarda la geografia esso è stato assai proficuo perché ha offerto agli studenti la possibilità di approfondire la conoscenza di un ambiente geografico come la Val di Susa e di studiarne la vitale e complessa realtà socio-economica.

Per ciò che riguarda la biologia, gli studenti si sono resi conto dell'importanza di studiare gli effetti delle sostanze tossiche sull'uomo e più in generale sugli organismi viventi e sull'ambiente: ciò ha reso meno astratto lo studio della biologia e maggiormente consapevoli gli alunni del fatto che ogni cittadino ha il diritto-dovere di essere informato sulle scelte effettuate dalla società civile.

Tale progetto, pertanto, ha ampliato le conoscenze e dato impulso al miglioramento delle abilità, in particolare per ciò che riguarda l'espressione scritta e orale di gran parte degli studenti i quali, dovendo confrontarsi nei gruppi ed esporre pubblicamente il loro lavoro, hanno mostrato una maggiore cura delle abilità espressive.

*Allievi:* Alex Angelini, M. Vittoria Argenti, Giacomo Baldini, Tommaso Bonanni, Gleb Charounine, Raffaele D'Agostino, Gianluca De Cicco, Samir De Marchi, Andrea Di Rienzo, Riccardo Farano, Edoardo Forte, Tiberio Gentili, Elisa Gionangeli, Giacomo Ignesti, Martina Kunkl, Olimpia Longhini, Filippo Medusa, Pierre Moens, Stefano Palalidis, Marianna Piazza, Daniele Saurini, Azat Senbayev, Veronica Vignoli.

## IL FUMO DI SIGARETTA

**Docenti:** Silvia Giannella, Aquilina Ticchi

**Scuola:** Liceo Classico "Virgilio", Roma

**Classe:** secondo anno biennio sperimentazione Brocca, indirizzo classico

**Discipline coinvolte:** biologia, geografia

### Obiettivi didattici

- Acquisizione di conoscenze relative all'impatto di sostanze chimiche sull'ambiente mondo;
- acquisizione di concetti di base della tossicologia;
- acquisizione del concetto di rischio e di riduzione del rischio ambientale;
- approfondimento, attraverso materiali eterogenei (interviste, articoli di giornali, spettacoli teatrali e cinematografici), delle tematiche studiate negli aspetti geografici, economici e antropici.

### Relazione degli studenti

Questa è la seconda parte di un lavoro svolto dalla Classe V Ginnasio Classico Brocca del Liceo "Virgilio" di Roma, anno scolastico 2005-2006.

Il lavoro segue il filo conduttore delle sostanze tossiche; dopo averne analizzato i gravi danni causati all'ambiente (Seveso, Porto Marghera, Bhopal - India) abbiamo preso in considerazione come alcune influiscano anche nel nostro ambiente (famiglia, amici, scuola), in particolare quelle contenute nelle sigarette: un vizio per molti...

Abbiamo cominciato questo lavoro ragionando su un problema proposto dalle nostre insegnanti che gestivano l'ora di copresenza (Silvia Giannella, docente di Biologia; Aquilina Ticchi, docente di geografia). Il problema è riportato nel riquadro a pag. 141.

Cominciando a portare tesi – chi a sostegno di Massimo, chi a sostegno di Andrea – ci siamo divisi in gruppi, ognuno con il compito di trovare uno o due argomenti di quelli scaturiti dalla lettura della storia. Ogni gruppo ha realizzato un elaborato finale che poi è stato montato in un unico ipertesto conclusivo.

Abbiamo deciso di presentare all'Istituto Superiore di Sanità il lavoro sul fumo di sigarette, in quanto ci ha colpito di più e lo consideravamo più vicino al nostro mondo.

Ci siamo documentati su vari argomenti: dati riguardanti l'aria delle città; sostanze nocive contenute nelle sigarette; rispetto per gli altri; effetti del fumo di tabacco sulla salute; problemi di dipendenza; esperienze personali (utilizzando un questionario e interviste); perché si inizia a fumare; le sigarette nella società (film, fumetti); smettere di fumare.

Il lavoro di gruppo determina il coinvolgimento di tutti i componenti e una stretta collaborazione fra essi, che porta alla condivisione e allo scambio di idee e suggerimenti per migliorare il prodotto finale. Riteniamo comunque che il sistema di lavoro

### L'alibi "vincente"

Andrea e Massimo stanno preparando insieme un esame all'Università. Massimo si accende l'ennesima sigaretta; Andrea gli dice che dovrebbe smettere perché è ormai accertato che il fumo di tabacco provoca il tumore al polmone.

Massimo, continuando a fumare, risponde:

"Perché dovrei smettere visto che basta camminare per le strade della città per respirare veleni?"

**Quali argomenti potresti portare a Massimo per convincerlo a smettere?**



in gruppi sia la metodologia didattica più opportuna nell'ambito di una copresenza. Quest'ora permette l'approfondimento di argomenti interessanti che non sono strettamente collegati alle materie curriculari e che quindi danno la possibilità di acquisire conoscenze su realtà quotidiane a noi vicine, rendendo la lezione piacevole. Inoltre, questo sistema è una valida alternativa alla tradizionale lezione frontale, poiché si crea una situazione di quasi totale parità tra lo studente e il professore: entrambi infatti si documentano per poi dare il proprio contributo alla lezione attraverso il materiale trovato. Lo studente è in questo modo più coinvolto nello studio e nello svolgimento del lavoro perché è responsabile di ricercare documenti di interesse collettivo e di illustrarli alla classe, attuando una selezione del materiale e sentendosi quindi più decisivo per la buona riuscita della lezione.



Il metodo di studio è quindi innovativo e stimolante, sviluppa senso critico e permette un confronto fra i diversi punti di vista e i metodi di lavoro. Un lavoro di gruppo affrontato nel modo giusto può portare al rafforzamento della classe e a una maggiore intesa tra i compagni, facilitando la socializzazione.

Siamo infine giunti alla conclusione che lo studente universitario che fumava nella storia si sbagliava e speriamo, nel nostro piccolo, che con questo lavoro anche altre persone possano rendersi conto dei danni provocati dal fumo.

### Fonti

- [www.fumo.it/fumatore/educazionale/dipendenzanicotina](http://www.fumo.it/fumatore/educazionale/dipendenzanicotina)
- [kidmir.bo.cnr.it/besta/fumo/aznico.html](http://kidmir.bo.cnr.it/besta/fumo/aznico.html)
- [www.albanesi.it/salute/osteoporosi.jpg\\_copyrightbyTHEA2004](http://www.albanesi.it/salute/osteoporosi.jpg_copyrightbyTHEA2004)

- [www.smettere-di-fumare.it](http://www.smettere-di-fumare.it)
- [www.chirurgiatoracica.org](http://www.chirurgiatoracica.org)
- [www.arpa.vda.it](http://www.arpa.vda.it)
- [www.torinoscienza.it](http://www.torinoscienza.it)
- [www.fumo.it/fumatore/faq](http://www.fumo.it/fumatore/faq)
- [www.kidmir.bo.cnr.it/besta/fumo/fumpas.html](http://www.kidmir.bo.cnr.it/besta/fumo/fumpas.html)
- [www.ateneonline-aol.it/040331ausaAPmed.html](http://www.ateneonline-aol.it/040331ausaAPmed.html)
- [www.fumo.it/medico/educazionale/apparatoresp/cap4/](http://www.fumo.it/medico/educazionale/apparatoresp/cap4/)
- [www.ministerosalute.it/ccm/documenti/rassegna\\_effetti\\_fumo\\_passivo.pdf](http://www.ministerosalute.it/ccm/documenti/rassegna_effetti_fumo_passivo.pdf)
- [www.benessere.com/salute/fumo/cons\\_giuridiche.html](http://www.benessere.com/salute/fumo/cons_giuridiche.html)
- [www.smettere-di-fumare.net](http://www.smettere-di-fumare.net)
- [www.smettere-di-fumare.net/quando-smetti.html](http://www.smettere-di-fumare.net/quando-smetti.html)
- [www.comune.fe.it/nosmoking/ex\\_fumatori.html](http://www.comune.fe.it/nosmoking/ex_fumatori.html)
- Smoke di Wayne Wang, con Harvey Keitel, Paul Auster, USA 1995, commedia
- Italo Svevo, La coscienza di Zeno, 1923, Giunti Editore
- Collana di quattro volumi editi da "L'Espresso" in collaborazione con la Panini Comix; Hugo Pratt, Corto Maltese; Tex Willer della Sergio Bonelli Editore (Fumetti)

### Il punto di vista delle insegnanti

Il progetto è stato svolto in orario curricolare (1 ora a settimana per tutta la durata dell'anno scolastico), approfondendo i temi della tossicologia in specifici ambienti geografici.

Gli alunni si sono dimostrati decisamente interessati alle tematiche trattate perché di grande attualità sia dal punto di vista scientifico che sociale e hanno approfondito lo studio degli argomenti concordati lavorando in modo serio e rispettando le scadenze.

La metodologia utilizzata fa riferimento al *cooperative-active learning* (articoli di giornali) e al PBL (*problem-based learning*).



Gli studenti del Liceo "Virgilio" di Roma relatori del convegno presso l'Istituto Superiore di Sanità

Gli alunni sono stati suddivisi in gruppi.

Sono stati approfonditi alcuni temi: le sostanze nocive presenti nelle sigarette, il loro effetto sulla salute, il fumo passivo, i problemi della dipendenza fisica e psichica, attraverso siti Internet, libri, film.

Le informazioni ottenute sono state rielaborate e i lavori sono stati presentati al resto della classe.

Alcuni alunni che, nel rapporto tradizionale con le discipline, non sono stati mai particolarmente brillanti, attraverso questo approccio autonomo allo studio si sono rivelati veri e propri leader riuscendo a far partecipare anche i compagni meno propensi a farlo.

Il livello di conoscenze degli aspetti problematici degli argomenti affrontati è notevolmente aumentato così come è migliorata la capacità di ricerca e rielaborazione dei materiali trovati.

Si è in tal modo potuta verificare la validità di un metodo di lavoro incentrato sulla ricerca, che vede come protagonisti del percorso di approfondimento gli stessi studenti e realizza specifici apprendimenti interdisciplinari in una cornice condivisa e partecipata.

*Allievi:* Adriano Bertollini, Costanza Biagianti, Valeria Bianconi, Greta Boldorini, Clementina Bombacci, Alessandro Bruno, Caterina Cipri, Valeria Colagrossi, M. Flavia Corsetti, Arianna D'Annunzio, Edoardo Di Francesco, Simona Di Marco, Julie Incarnati, Susanna Karasz, Mikailo Kun, Claudio Mazzocchi, Ambra Mechilli, Sara Mohammad, Agostino Sotgia, Esper Tedeschi.



## SIEDITI E RAGIONA: LA CHIMICA E LE SOSTANZE PERICOLOSE

**Docente:** Antonietta Tullio

**Scuola:** Istituto Tecnico per le Attività Sociali “Sandro Pertini”, Campobasso

**Classe:** terzo anno, indirizzo Ambiente

**Discipline coinvolte:** chimica e tecnologie chimiche

### Premessa

In seguito alla mia partecipazione al corso di aggiornamento “Le sostanze chimiche, l’ambiente e noi. Spunto per un’azione didattica”, tenutosi a Roma nel novembre 2005 presso l’Istituto Superiore di Sanità (ISS), ho accolto volentieri l’invito ad adottare una metodologia didattica che riesca a promuovere una partecipazione attiva e consapevole degli studenti in modo che essi costruiscano da soli la propria conoscenza.

Nel nostro Istituto scolastico esiste un blocco tematico, che si interseca nella progettazione modulare, chiamato *area dell’integrazione*, nel quale sia i docenti sia i discenti affrontano e progettano insieme studi e problemi inerenti all’indirizzo, applicando conoscenze apprese nel percorso curriculare e acquisendo nuove competenze spendibili anche al di fuori della scuola. Dopo diversi anni di insegnamento in chimica e tecnologie chimiche mi sento sicura nell’individuare alcuni temi che da sempre appassionano gli studenti. Ho progettato, quindi, per la classe III C del triennio ad indirizzo Ambiente, un intervento didattico basato sulla classificazione delle sostanze pericolose attraverso un apprendimento cooperativo.

### Azione didattica

**Finalità:** acquisizione autonoma da parte degli allievi di conoscenze legate alla tossicità delle sostanze chimiche finalizzate a un comportamento responsabile da adottare in laboratorio chimico e in campo extrascolastico.

**Obiettivi cognitivi specifici:** raccogliere informazioni e acquisire un’adeguata conoscenza sull’argomento alla base del problema proposto.

**Obiettivi formativi:** promuovere la socializzazione degli allievi per mezzo del lavoro di gruppo e allenarli al rapporto con la docente e i compagni in situazioni non strettamente scolastiche.

**Attività didattica:** lavoro di gruppo applicando il metodo basato sull’apprendimento cooperativo; ricerca, discussione e analisi critica dei documenti da parte degli allievi in piena autonomia; assistenza tutoriale della docente.

**Risorse utilizzate:** laboratorio di informatica, Internet, biblioteca dell’Istituto.

**Prodotti:** relazione sull’argomento, ipertesto per la presentazione presso l’ISS.

**Valutazione:** descrittori (motivazione e partecipazione, conoscenza dei contenuti, qualità dei prodotti, competenze acquisite); oggetto della valutazione (relazione, ipertesto).

## Relazione degli studenti

La fase preliminare ha preso avvio da una richiesta dell'insegnante di chimica che poneva a noi alunni il problema di formulare una catalogazione, originale e capace di destare l'attenzione degli studenti, dei simboli di pericolosità dei prodotti chimici.

Partendo dalle etichette che si trovano sui detersivi e sui solventi fino ai composti chimici che troviamo nel nostro laboratorio scolastico, abbiamo individuato i nove simboli principali delle sostanze pericolose. In base al regolamento emanato dall'Unione Europea e recepito dai singoli Governi che l'hanno reso obbligatorio, le sostanze pericolose devono essere identificate con particolari simboli e indicatori di pericolo. I simboli di pericolo devono essere riportati in scrittura nera su sfondo giallo-arancione. Abbiamo così pensato di raccogliere tutti i simboli di pericolosità in un graffito dal titolo "Siediti e ragiona: la chimica e le sostanze pericolose" e di realizzare un ipertesto di facile consultazione.

## Studio cooperativo

Lo sviluppo del progetto è stato diviso in sezioni affidate a quattro gruppi di lavoro diversi. Ciascun gruppo aveva un compito specifico e a ogni componente del gruppo era affidata una mansione precisa in modo che ogni gruppo e ogni studente si costituisse come esperto di un aspetto particolare.

- 1° Gruppo: fase di ricerca sulle frasi di sicurezza e di rischio attraverso la lettura di testi specifici e l'uso del computer e Internet;
- 2° Gruppo: fase di preparazione del graffito;
- 3° Gruppo: fase di ricerca di gif animate attraverso Internet;
- 4° Gruppo: fase di realizzazione dell'ipertesto.



Figura 1 - Graffito di presentazione



**Figura 2** - Simboli di pericolosità

La fase conclusiva del lavoro ha portato, quindi, alla formulazione di un ipertesto nuovo e originale che parte dal graffito in cui sono rappresentati i vari simboli e che rimanda successivamente, per ognuno di essi, al significato, ad alcuni esempi e alle informazioni riguardanti la natura dei rischi e i consigli relativi al loro impiego. L'ipertesto è stato presentato in occasione del convegno: "Voci dalla scuola: un primo confronto in tema di sostanze chimiche", che si è tenuto a Roma presso l'ISS il 17 maggio 2006.

### **Punto di vista dell'insegnante**

La partecipazione al progetto ha avuto soltanto aspetti positivi:

- il lavoro è stato sviluppato, come già detto in precedenza, durante le ore dell'*area dell'integrazione*, non gravando, quindi, sul computo delle ore dedicate alla disciplina;
- la motivazione è alta perché l'attività risponde meglio alla curiosità dell'alunno e ne propone l'autonomia nello studio e la padronanza critica dei contenuti disciplinari appresi con approdo a nuove combinazioni e relazioni tra gli stessi.

Al termine dell'esperienza posso esprimere sia la mia soddisfazione per l'attenzione e la creatività nella ricerca della soluzione alla proposta di una situazione problematica dimostrata dall'intera classe, sia quella degli allievi per essere riusciti a rappresentare in modo convincente il loro autonomo percorso di studi, le ipotesi e i risultati raggiunti.



Gli studenti dell'Istituto Tecnico per le Attività Sociali "Sandro Pertini" di Campobasso relatori del convegno presso l'Istituto Superiore di Sanità

*Allievi:* Lorys Assante, Agostino Condello, Vincenzo De Luca, Federico Del Vecchio, Renato Di Vico, Giuseppe Evangelista, Isabella Fiorino, Davide Lombardi, Davide Marino, Serena Martino, Silvio Mascitelli, Gianantonio Pelosi, Michael Petruccioli, Noemi Pietrunti, Rubja Presutti, Mariafranca Simiele, Mariacristina Simiele, Ilaria Spicciato, Christian Spina, Maria Zappone

## NON C'È SOLO DDT

**Docente:** Lucia Amico

**Scuola:** Liceo Classico “ Ruggero Settimo”, Caltanissetta

**Classi:** quarto, quinto ginnasio e prima liceo sperimentale Brocca

**Discipline coinvolte:** scienze, italiano, diritto, informatica

### Premessa

Ancora una volta mi ritrovo a commentare, con grande soddisfazione, l'esperienza fatta nel collaborare al progetto proposto dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che ha avuto come tema: “Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi”.

La mia scuola infatti già da alcuni anni ha vissuto questa esperienza partecipando ad altre iniziative che hanno avuto sempre come obiettivo quello di creare una collaborazione tra scuola ed istituti di ricerca e se ancora proseguiamo vuol dire che l'entusiasmo continua ad esserci, sia da parte degli insegnanti coinvolti sia da parte dei ragazzi.

Il tema affrontato quest'anno è legato all'ambiente e considerando che l'argomento è di comune interesse nel quotidiano ed è connesso con la salvaguardia della propria salute, è chiaro che può suscitare curiosità e stimolare varie riflessioni; e se poi gli allievi sono sufficientemente motivati può portare in loro un cambiamento positivo. Mi è sembrato quindi giusto ancora una volta rinnovare questa esperienza anche coinvolgendo gli insegnanti di materie letterarie, diritto ed informatica dando vita così a un lavoro pluridisciplinare.

### Azione didattica

Il lavoro è stato svolto dalle classi IV e V B, I A a indirizzo maxisperimentale Brocca classico e linguistico. La scelta delle prime classi è stata motivata dal fatto che questi alunni, adolescenti, vivono un periodo particolarmente fragile e bisogno di accoglienza e sicurezza, vivono un'età non facile nella quale è importante, per aiutare i ragazzi nel loro sviluppo psico-fisico, trovare momenti ed elementi di condivisione e comunicazione tramite esperienze coinvolgenti e stimolanti. Pertanto, al fine di sostenere gli adolescenti nella loro “fatica della crescita”, affinché possano costruirsi una propria autonomia ed identità, può essere utile creare spazi di protagonismo giovanile in cui possa essere utilizzata la loro carica emotiva. Questo si è cercato di fare impegnandoli nel lavoro di ricerca autonomo imposto dal metodo *problem-based learning* (PBL) e con la partecipazione al convegno presso l'ISS, in cui gli alunni hanno descritto ed esposto, tramite la proiezione di un CD da loro elaborato, e in presenza di altri studenti, docenti e ricercatori, i risultati delle loro ricerche.

Gli obiettivi perseguiti mediante il lavoro sono stati:

- il miglioramento dell'offerta formativa dell'istituzione scolastica nel territorio attraverso la promozione di una nuova sensibilità alle problematiche ambientali;
- l'acquisizione da parte degli studenti di una disponibilità mentale al dubbio, alla domanda, alla ricerca nonché all'abitudine alla lettura.



Per quanto concerne la metodologia si è seguito il metodo PBL: si è partiti da un problema che aveva come titolo "Combattere la malattia senza far crollare i tetti", che poneva diversi interrogativi. Ogni classe, divisa in tre gruppi, ha dato avvio ad un lavoro di ricerca autonoma sulla scorta della curiosità e dell'interesse suscitato. Grande importanza è stata data alla costruzione del modello che rappresentava la molecola della dieldrina, che i ragazzi hanno portato con orgoglio al convegno riscuotendo grande successo da parte del pubblico presente in aula.

Il tempo impiegato è stato di circa tre mesi e si sono utilizzate le ore di scienze, italiano, diritto ed informatica; la stretta collaborazione ha reso il lavoro sereno e piacevole.

## Relazione degli studenti

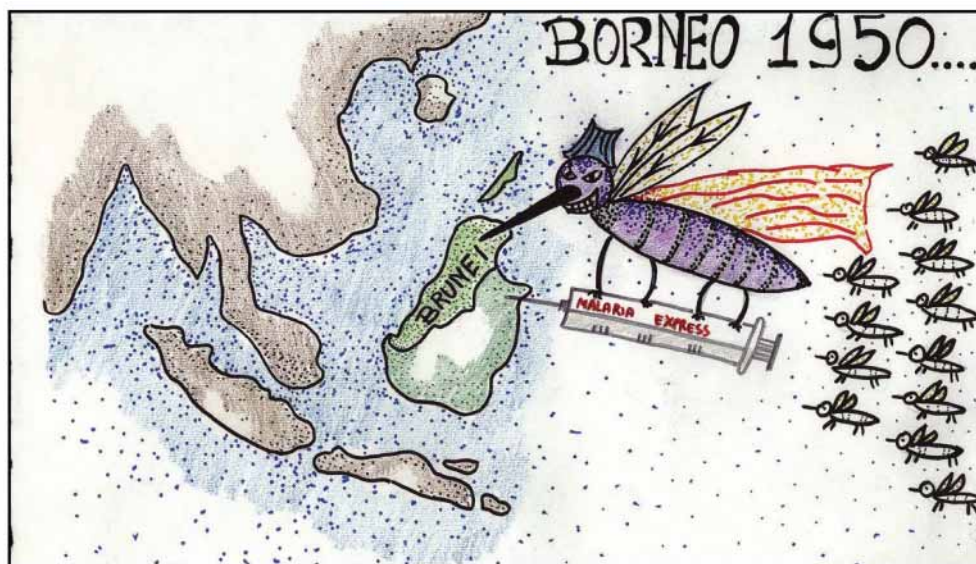
### *L'inizio del nostro lavoro*

Già l'anno scorso avevamo partecipato al convegno "Segnali sul fumo. Conoscenze scientifiche e indicazioni strategiche" presso l'ISS, ma solo come spettatori. Interessati e positivamente colpiti, quest'anno abbiamo deciso che la nostra sarebbe stata una partecipazione attiva e, di conseguenza, abbiamo lavorato al progetto sul tema "Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi" servendoci del metodo PBL e con risultati soddisfacenti.

### *Presentazione del problema*

I nostri insegnanti ci hanno presentato il problema di seguito descritto e ci hanno affidato il compito di individuare le possibili conseguenze, cosa che avremmo potuto fare solo documentandoci.

Negli anni Cinquanta, il 90% della popolazione del Brunei, un piccolo Stato sulla costa Nord-Occidentale del Borneo, soffriva di malaria (Figura 1). Un vero flagello, che spinse l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ad intervenire, spruz-



**Figura 1** - Vignetta tratta dal fumetto "Le avventure di Super Dieltrin"

zando un pesticida (il dieldrin) per uccidere le zanzare portatrici della malaria. La malaria fu debellata rapidamente e questo è, senza ombra di dubbio, il risultato più importante. Tuttavia, per gli abitanti del Brunei iniziava una lunga odissea.

Risolto il problema “malaria” quali danni ha provocato sull’ambiente il dieldrin?

### Organizzazione e fasi del lavoro

Partendo dal problema che le insegnanti ci avevano posto, abbiamo formulato delle ipotesi di risoluzione del quesito; in base alle ipotesi, ci siamo divisi in gruppi. Ogni gruppo ha curato un aspetto della ricerca approfondendo con documentazioni e indagini l’argomento da trattare; la fase successiva è stata la selezione delle informazioni e la loro sintesi.

Ad integrazione del lavoro, abbiamo realizzato un modellino della struttura molecolare del dieldrin e un fumetto che racconta, in modo ironico e semplice, la storia da cui è partito tutto il nostro lavoro.

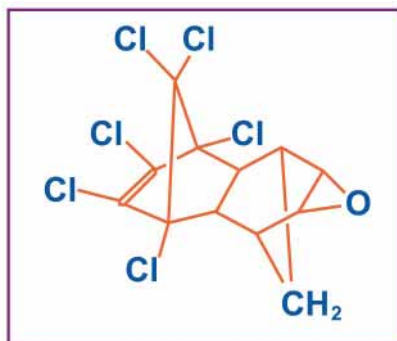


Figura 2 - La struttura molecolare del dieldrin

Il gruppo che si è occupato dell’aspetto giuridico e della legislazione ambientale, ha anche curato delle interviste a importanti rappresentanti di Legambiente in Sicilia.

Successivamente, collaborando con la classe I A, abbiamo iniziato il lavoro di integrazione delle documentazioni. In seguito, abbiamo realizzato al computer un supporto grafico, contenente il fumetto con inserite le informazioni raccolte e sintetizzate, per facilitare l’esposizione e la comprensione da parte dell’uditorio (Figura 2, 3, 4 e 5).

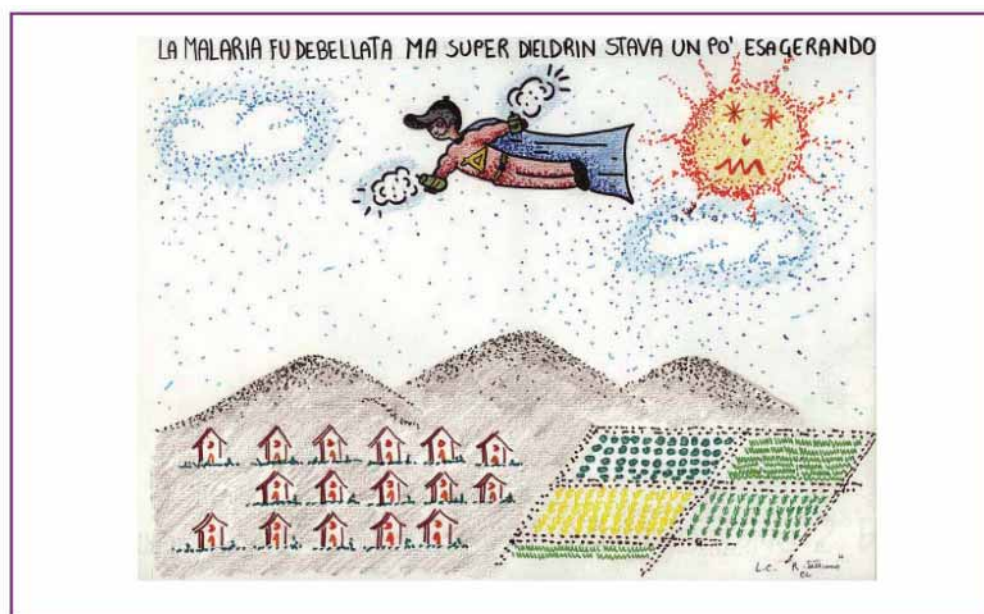


Figura 3 - vignetta tratta dal fumetto “Le avventure di Super Dieldrin”





Figura 4 - Vignetta tratta dal fumetto "Le avventure di Super Dieldrin"



Figura 5 - La vignetta conclude il fumetto. Il dieldrin, come altri pesticidi, è bandito nella maggior parte dei Paesi industrializzati. Tuttavia in alcuni Paesi dell'Africa e dell'India è ancora utilizzato nella lotta contro la malaria, in quanto i benefici sono considerati superiori ai danni/rischi per la salute. Abbiamo trovato che il dieldrin è cancerogeno, ma il tumore è una malattia degenerativa a lungo decorso e chi muore di malaria a trent'anni può mettere in secondo piano l'effetto cancerogeno del dieldrin

### *Il PBL: imparare da protagonisti*

Il metodo che abbiamo adottato per il nostro lavoro è il PBL, utilizzato in ISS per la formazione dei professionisti in sanità pubblica, e recentemente proposto come metodo didattico alternativo per lo studio delle scienze nelle scuole superiori.

Esso pone alla base del lavoro di ricerca un problema, sotto forma di piccola storia o di affermazioni oggettive con una domanda finale: obiettivo di noi studenti è quello di trovarne la soluzione e chiarirne i concetti a seconda della sua natura.

Come previsto dal metodo, noi eravamo ignari dell'argomento scientifico in questione in quanto non avevamo assistito a nessuna lezione introduttiva su questo argomento; così ci siamo trovati al centro del processo formativo, responsabili della scelta della documentazione e della formulazione delle ipotesi.

Durante il lavoro di ricerca abbiamo acquisito nuove conoscenze grazie all'analisi del problema e, attraverso il lavoro di gruppo, abbiamo imparato anche a prendere in considerazione le idee dei compagni, sperimentandone e valutandone le applicazioni, e sviluppando così capacità relazionali.

Abbiamo tuttavia notato l'insorgere di diverse difficoltà a livello di organizzazione e di interpretazione del problema, in quanto la nostra autonomia nella valutazione delle fonti documentative può portarci facilmente a soluzioni errate; inoltre l'organizzazione in gruppi di lavoro ha favorito la formulazione di ipotesi inutili e/o insufficienti.

Ciononostante, possiamo affermare che questo tipo di metodologia contribuisce certamente a migliorare l'approccio di noi studenti nei confronti dell'attività didattica attraverso un forte coinvolgimento e una partecipazione più attiva, favorendo anche la collaborazione e spronandoci a "imparare da protagonisti".

### *Valutazione del lavoro*

Portato a termine il progetto raccogliamo e presentiamo qui di seguito gli aspetti positivi e negativi della nostra esperienza.

#### **Aspetti positivi**

- Utilizzo di un metodo di lavoro del tutto nuovo;
- maggiore interesse e coinvolgimento degli studenti;
- maggiore collaborazione e scambio di idee tra compagni;
- capacità di riconoscere ciò che è utile ai fini del progetto e ciò che non lo è;
- autonomia di lavoro;
- potenziamento delle capacità di analisi ed elaborazione;
- acquisizione di un metodo adottabile in qualsiasi contesto scolastico ed extra-scolastico.

#### **Aspetti negativi**

- Difficoltà nell'organizzazione del lavoro;
- rischio di allontanarsi dal vero tema da trattare;
- difficoltà nella ricerca delle informazioni;
- poco tempo a disposizione;
- difficoltà nella rielaborazione delle informazioni acquisite.

L'esperienza si è rivelata per noi positiva in quanto il metodo utilizzato ci ha reso in grado di selezionare tra la vasta gamma di informazioni quelle che erano utili e quelle che non lo erano; la divisione in gruppi ha fatto in modo che ci fosse una più alta collaborazione tra noi compagni e un maggiore scambio di idee.

Sul piano didattico abbiamo allargato le nostre conoscenze sia in campo scientifico sia in quello informatico.



Gli studenti del Liceo Classico "Ruggero Settimo" di Caltanissetta relatori del convegno presso l'Istituto Superiore di Sanità



Gli studenti discutono con una ricercatrice dell'Istituto Superiore di Sanità

## Punto di vista dell'insegnante

Alla fine del lavoro, e per i risultati conseguiti, si può affermare senz'altro che c'è stato un miglioramento dell'offerta formativa della scuola ma, nonostante la gran mole di lavoro effettuato, la sensibilità, l'attenzione e la disponibilità di noi tutti nei confronti degli allievi e la rigorosa trattazione e documentazione degli argomenti proposti, solo nel tempo potrà essere pienamente misurata e valutata l'effettiva ricaduta sui discenti. L'entusiasmo che hanno manifestato i ragazzi nei confronti di questo progetto è stato costante. Gli alunni hanno familiarizzato tra loro rafforzando, durante il lavoro, sia uno spirito di gruppo sia attenzione e interesse alla ricerca per saperne di più. La partecipazione inoltre al convegno di Roma è stata un modo per conoscersi e scambiare esperienze con classi di scuole diverse presenti alla manifestazione. Il momento clou è stato ovviamente quello dell'esposizione di un ipertesto in Power Point, da loro elaborato, davanti ai ricercatori dell'ISS. In tale circostanza si sono sentiti per la prima volta protagonisti, anche se emozionati.

Da parte mia, quello che ha sostenuto questo lavoro, che ha richiesto impegno, tempo e cura per l'organizzazione, è stata la passione che nutro per questa professione e soprattutto la consapevolezza che la nostra vita deve essere testimonianza delle cose in cui crediamo; pertanto mi propongo, per gli anni futuri, di continuare ad impegnarmi in quest'opera di sensibilizzazione ed educazione.

## Fonti

Enciclopedia Microsoft Encarta  
[it.geocities.com/allfonsit/itchimtox.htm](http://it.geocities.com/allfonsit/itchimtox.htm)  
[www.polliceverde.it](http://www.polliceverde.it)  
[www.legambiente.it](http://www.legambiente.it)  
[www.lexambiente.it](http://www.lexambiente.it)  
[www.minerva.unito.it](http://www.minerva.unito.it)  
[www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)  
[www.greenpeace.com](http://www.greenpeace.com)

### **Allievi IV B**

Adriana Abate, Giulia Allata, Maria Astrid Amico, Norma Amico, Silvia Amico, Emanuele Annaloro, Federico Arnone, Alessandra Giorgia Cerami, Giulio Chiantia, Martina Cucchiara, Sabrina Curatolo, Giuseppe Cutrera, Fabrizio Daina, Francesca Anna Di Gregorio, Federica Falzone, Marco Farinella, Dario Geraci, Giorgio Giammusso, Martina Maria Gucciardo, Donatella La Placa, Chiara Lo Vetere, Alessio Lopiano, Rita Mangione, Cristina Santangelo, Livia Maria Santangelo, Alfredo Maria Violo, Martina Vurruso

### **Allievi V B**

Pierluigi Agliata, Cristina Alù, Chiara Cinardo, Roberta Ida Vittoria Contino, Felicia Simona Cordaro, Giuseppina M.A. Di Natale, Andrea Salvatore Faraci, Eleonora Fina, Vittorio Maria Fontanazza, Michele Giammusso, Riccardo Ginevra, Salvatore Gruttadauria, Simona Gueli, Laura Macrì, Jasmine Matrascia, Federico Sagrati, Giuseppe Spera, Cinzia Maria Tarentini, Fabrizio Maria Vaccari

### **Allievi I A**

Rosanna Barone, Anita Maria Bellomo, Marco Cosentino, Melinda Damico, Francesca Di Gregorio, Anna Federico, Laura Gallo, Maria Concetta Giambarresi, Noemi Concetta Giardina, Eleonora Iannello, Elisa Maienza, Federica Martinez, Claudia Rita Patti, Sara Pignatone, Giulia Plumeri, Tania Privitera, Fabiana Rosalia Ricotta, Marco Salvatore Saporito, Francesca Sardo, Sara Scarpinato, Ilenia Spagnolo, Fabio Testaquadra, Martina Vella

## LE SOSTANZE CHIMICHE INTORNO A NOI: RISCHI PER LA NOSTRA SALUTE

**Docente:** Anna Maria Lo Bue

**Scuola:** IPSSA "Rosario Livatino", Mazzarino (Caltanissetta) - IIS "Angelo Di Rocco", Caltanissetta

**Classe:** secondo anno

**Discipline coinvolte:** chimica, biologia, ecologia.

**Prerequisiti:** conoscenze di base in microbiologia e chimica, essere in grado di utilizzare tecniche di laboratorio elementari, essere in grado di utilizzare Internet.

### Obiettivi

- Apprendimento di nozioni e concetti su alimenti, su detersivi e su fitofarmaci, sulle varie sostanze presenti, sia come componenti sia come contaminazioni e su metodi sperimentali per valutarne possibili effetti tossici;
- acquisizione della capacità di usare le conoscenze acquisite per fare corrette scelte alimentari, nonché un corretto uso di detersivi e di fitofarmaci.

### Relazione degli studenti

La docente di scienze ci ha proposto di utilizzare la nostra ora di approfondimento settimanale per una nuova attività: lo studio delle sostanze chimiche contenute in molti prodotti che ci circondano, utilizzando nel nostro lavoro:

- il metodo *problem-based learning* (PBL);
- i *concept cartoon*.

Lo studio ha preso avvio dalla lettura di un articolo di giornale (Lillo 2006) su un contaminante dei cereali, l'ocratossina\*, e sugli effetti che ne possono conseguire per la nostra salute. Questa sostanza molto tossica è prodotta da muffe\*, che possono svilupparsi sui cereali, ma anche su altri substrati\* organici, e quindi può essere presente anche in altri alimenti.

### Quesiti proposti dal docente

1. Quali domande suscitano le notizie riportate nell'articolo?
2. Quali sostanze, secondo voi, possono contaminare gli alimenti?  
Che problemi potrebbero provocare?
3. I prodotti di uso quotidiano possono contenere altre sostanze chimiche in grado di arrecare danni?



L'articolo parlava di un'azione nefrotossica da parte dell'ocratossina, la quale quindi, secondo i regolamenti europei, non deve superare negli alimenti la concentrazione di 5 µg/kg, considerata il massimo livello accettabile

### Metodi

Per rispondere alle domande della nostra professoressa, abbiamo pensato di costituire 4 gruppi che si occupassero dello studio di:

- alimenti;
- detersivi;
- fitofarmaci;
- agenti tossici e mutageni e saggi di laboratorio.

Ogni gruppo ha quindi cominciato a documentarsi su quanto doveva approfondire.

**Gruppo n. 1:** il nostro gruppo ha cominciato l'attività utilizzando Internet, libri di testo (Cappelli, Vannucchi 2000; Ferrari *et al.* 2000b), documentazione fornita dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e articoli forniti dal docente (Miraglia *et al.* 2006) nella ricerca di dati circa le tossine fungine che possono svilupparsi sugli alimenti e sui loro effetti sull'uomo. Inoltre, esaminando le etichette degli alimenti che usiamo quotidianamente, abbiamo cercato di capire con quali altre sostanze chimiche possiamo venire in contatto e quali effetti hanno sulla salute umana.

**Gruppo n. 2:** la prima fase del lavoro è consistita nella consultazione dei siti Internet e nella classificazione dei vari detersivi. Quindi abbiamo raccolto notizie sui vari detersivi in uso nelle nostre case leggendo attentamente le etichette per rilevare i vari componenti e tra essi i possibili agenti pericolosi, nonché l'effetto causato sull'uomo.

**Gruppo n. 3:** abbiamo fatto ricerche su Internet, libri di testo (Ferrari *et al.* 2000a), documentazione fornita dall'ISS. Abbiamo preso in considerazione i componenti di fitofarmaci in uso nelle nostre aziende agricole, partendo dalla lettura delle etichette presenti su ciascun flacone e abbiamo consultato il prontuario dei fitofarmaci (Muccinelli 2000). Abbiamo così classificato i fitofarmaci in relazione al loro uso ed evidenziato la loro tossicità.

**Gruppo n. 4:** abbiamo fatto, come primo passo, ricerche, utilizzando Internet e testi scolastici (Boschetti, Fedrizzi 2004), sugli effetti tossici e mutageni di varie sostanze chimiche, quindi abbiamo saggiato in laboratorio campioni di alimenti, fitofarmaci e detersivi applicando il Test di Ames modificato.

### Risultati

I dati raccolti sono stati riassunti in tabelle, che per motivi di brevità citiamo soltanto. La prima tabella, dal titolo "Le micotossine", contiene indicazioni di alimenti sui quali esse possono svilupparsi e sui livelli di concentrazione ritenuti accettabili dai regolamenti europei. Una seconda tabella sui "Fattori dietetici" con azione mutagena riporta i fattori dietetici responsabili di effetti tossici sull'organismo umano.

Una terza tabella "Additivi alimentari" riporta gruppi di sostanze che con diversi scopi – dai conservanti agli edulcoranti – vengono aggiunti agli alimenti.

Informazioni sulle sostanze contenute nei detersivi di uso comune sono riportate in una quarta tabella dal titolo "Effetti dei detersivi, candeggianti e disinfettanti".

La classificazione dei fitofarmaci sulla base degli organismi bersaglio è indicata nella tabella "Classificazione dei fitofarmaci".

Infine, le prove di laboratorio hanno messo in luce per alcuni fitofarmaci l'effetto mutageno.

### Punto di vista degli studenti

**Gruppo n. 1:** le informazioni recuperate ci hanno permesso di comprendere come negli alimenti si possano sviluppare sostanze pericolose per la nostra salute, le micotossine, prodotte da varie specie fungine che li attaccano. Inoltre, perfino alcuni additivi alimentari aggiunti dall'uomo durante le fasi di lavorazione e conservazione di un alimento, possono in parte presentare un certo grado di pericolo per la nostra salute.

Grazie a questo studio ora sappiamo qualcosa in più riguardo ai nostri alimenti, ma soprattutto, abbiamo preso coscienza:

- dell'importanza di essere informati su ciò che è contenuto negli alimenti;
- dell'importanza dell'esame delle etichette dei prodotti alimentari.

Sicuramente ora staremo più attenti nella scelta dato che conosciamo che alcuni additivi sono capaci di provocare effetti al nostro organismo.

**Gruppo n. 2:** il presente studio ci ha permesso di valutare l'importanza delle sostanze che costituiscono i detersivi che usiamo quotidianamente.

Abbiamo capito come molti detersivi, che maneggiamo con leggerezza, richiedono una maggiore attenzione nella loro manipolazione perché altrimenti rischiano di diventare pericolosi per la nostra salute. Ci proponiamo, pertanto, di leggere sempre le etichette dei detersivi prima di farne uso, per capirne il grado di eventuale pericolosità per la nostra salute e di passare queste informazioni alle nostre mamme affinché siano più attente nell'uso di queste sostanze.

**Gruppo n. 3:** i fitofarmaci studiati ci hanno permesso di capire che queste sostanze sono pericolose per l'uomo, sia per l'operatore quando li distribuisce sulle piante sia per il consumatore finale se viene a trovare tracce di prodotto sui vegetali consumati.

Alla luce di questo ci proponiamo di approfondire:

- la necessità dell'uso;
- la quantità somministrata;
- i tempi di somministrazione;
- l'attuazione di tutte le precauzioni durante la loro manipolazione.

**Gruppo n. 4:** i risultati ottenuti dopo le analisi effettuate in laboratorio ci permettono di comprendere come molte delle sostanze saggiate (detersivi e fitofarmaci) presentano un'inibizione di crescita del *Saccharomyces cerevisiae*\* (dato atteso), ma 4 tra i 13 (30,7%) campioni di fitofarmaci hanno avuto un'attività mutageno. I dati ottenuti sono comunque preliminari.

Nostro proposito è, pertanto, continuare a saggiare altre sostanze, presenti soprattutto in detersivi, sulle quali abbiamo ancora pochissimi dati.

### Punto di vista dell'insegnante

L'esperienza didattica si è rivelata molto interessante, sia perché ha investito diversi settori della nostra vita dandoci la possibilità di spaziare su diversi ambiti, sia perché ha permesso a tutti di lavorare e produrre risultati.



## COSTITUZIONE DI 3 GRUPPI DI STUDIO



## 4° GRUPPO DI STUDIO



La formazione dei gruppi di studio

Durante lo svolgimento delle attività ho avuto modo di vedere i ragazzi molto coinvolti, si sono organizzati in vari gruppi di lavoro in relazione alle loro attitudini e interessi. Hanno mostrato un vivo interesse per le dinamiche didattiche diverse impiegate durante il lavoro. Hanno mostrato un impegno non indifferente, occupando diverse ore di lavoro a casa. Inoltre, quando si è trattato di produrre i risultati delle attività, hanno lavorato anche in ore extracurricolari in collaborazione con il docente facilitatore.

Ho avuto modo di apprezzare negli allievi qualità che altrimenti non avrei avuto modo di rilevare, quali:

- impegno extrascolastico attivo quando l'argomento è coinvolgente;
- interesse verso discipline diverse;
- capacità di collaborazione;
- capacità di rielaborazione e produzione di risultati;
- spiccato interesse verso l'attività pratica.

A causa dei limiti proposti per la pubblicazione, non è stato possibile inserire i dati che gli allievi hanno prodotto circa i componenti degli alimenti: coloranti, conservanti, edulcoranti e lo studio di tutte le etichette dei prodotti da loro fatto.

Ho avuto modo di apprezzare molto il tema proposto ma, proprio perché molto ampio, il tempo a disposizione è risultato inadeguato e sarebbe, pertanto, utile impegnare un altro anno scolastico per la conclusione del lavoro per quanto attiene soprattutto la parte pratica di laboratorio.

Infatti, con questo studio, vorremmo sempre più sensibilizzare l'allievo a riflettere su ciò che mangia o ciò che usa al fine di fargli acquisire corretti stili di vita.

## **Bibliografia**

- M. Boschetti, E. Fedrizzi. *Genetica umana. Ecosistema Terra*. SB1. Minerva Italica, 87-138, 2004
- P. Cappelli, V. Vannucchi. *Additivi Alimentari. La Chimica degli Alimenti*. Seconda edizione., Zanichelli, 214-48, 2000.
- M. Ferrari, E. Marcon, A. Menta. *I fitofarmaci*. Ecologia applicata 1, Calderoni Edagricole, 147-249, 2000.
- M. Ferrari, E. Marcon, A. Menta. *Le micotossine*. Ecologia applicata 1, Calderoni Edagricole, 250-254, 2000.
- M. Lillo. Le mani in pasta. *L'Espresso*, n. 4 anno LII, 2 febbraio 2006.
- M. Muccinelli. *Prontuario dei fitofarmaci*. 9 ed. 2000. Calderoni-Edagricole
- M. Miraglia, F. Debegnach, C. Brera. Valutare il rischio da micotossine. Fusariosi e micotossine. *L'informatore agrario*, suppl. n. 1 al numero del 17.03.2006.

*Allievi Classe II A:* Daniela Bascetta, Luigi Bevilacqua, Salvatore Bonifacio, Giuseppe Branciforti, Filippo Catrini, Gianluigi De Simone, Carmelo Garziano, Daniele Giummara, Renato Giarrizzo, Filippo Di Benedetto, Salvatore Bognanni, Salvatore Palermo, Salvatore Gardina, Samuele Marino, Simona La Vattiata, Vincenzo Incarbono

*Allievi Classe II B:* Arcangelo Brancato, Daniele Brancato, Salvatore Cinardo, Luigi Corinto, Paolo Galanti, Salvatore Mancuso, Valeria Neri, Carmelo Santagati, Francesco Termine

## Glossario

### *Addotti del DNA:*

molecole di DNA modificate a seguito della formazione di legami covalenti con composti chimici di varia natura. Funzionano come delle maschere che rendono difficile la lettura delle triplette\* che compongono il DNA da parte degli enzimi, che devono copiarle perché avvenga la proliferazione cellulare. Se il DNA non viene copiato correttamente si formano degli errori, le mutazioni\*.

### *Aflatossine:*

micotossine\* prodotte da specie fungine appartenenti alla classe degli Ascomiceti del genere *Aspergillus*.

### *Aldeidi alifatiche:*

classe di sostanze chimiche caratterizzate da un gruppo funzionale -CHO legato a uno scheletro alifatico.

### *Amine:*

serie di composti organici che si possono considerare derivati dall'ammoniaca per sostituzione di uno o più atomi di idrogeno con altrettanti radicali organici (dai quali prendono il nome): alifatici, aromatici e eterociclici.

### *Aminoacido:*

ciascuno dei 20 composti organici che costituiscono una proteina. Contengono un gruppo carbossile COOH e un gruppo amminico -NH<sub>2</sub>, separati da una breve catena di atomi che varia da un aminoacido all'altro.

### *Allele:*

ciascuna delle varie forme che può assumere un gene\*.

### *Aplotipo:*

insieme composto da un allele\* per ogni gene che costituisce il genotipo\*.

### *Apoptosi:*

processo di differenziamento cellulare controllato geneticamente, che determina la morte programmata di una cellula a un certo punto del suo sviluppo.

### *Basalioma o epitelioma basocellulare:*

la forma più comune di cancro della pelle.

### *Basi azotate:*

composti organici contenenti un atomo di azoto. Nell'uso corrente l'espressione si riferisce alle basi puriniche: adenina (A) e guanina (G), e alle basi pirimidiniche: citosina (C), timina (T) e uracile (U), che costituiscono i nucleotidi\*.

### *Biodisponibilità:*

misura della facilità e rapidità con cui una sostanza attiva, una volta assunta, si distribuisce nell'organismo e raggiunge il sito di azione.

### *Biomarcatore di effetti biologici:*

alterazione biochimica, fisiologica o di altro tipo misurabile in un organismo che, a seguito dell'esposizione a un determinato fattore di rischio, indica un danno effettivo o potenziale alla salute o una vera e propria malattia (ad esempio, aberrazioni cromosomiche\*, scambio di cromatidi\* fratelli, micronuclei).

### *Biomarcatore di esposizione:*

una sostanza esogena o un suo metabolita\* o un prodotto dell'interazione tra uno xenobiotico e una molecola o una cellula bersaglio, misurati in un compartimento dell'organismo (ad esempio, i livelli urinari o plasmatici di composti esogeni e/o di loro metaboliti).

### *Biomarcatore di suscettibilità:*

intrinseca o acquisita diminuzione nella capacità di un organismo di rispondere ai possibili effetti conseguenti l'esposizione a un determinato xenobiotico (ad esempio, lo studio dei genotipi\* che caratterizzano il polimorfismo di enzimi coinvolti nel metabolismo dei composti tossici e/o cancerogeni).

### *Biomarcatore precoce:*

alterazione biochimica o molecolare misurabile in campioni biologici prima della comparsa di un vero e proprio stato patologico.

### *Biota:*

insieme di vita animale, vegetale e microbica che caratterizza una data regione.

*Cariocinesi o mitosi:*

divisione cellulare che comporta la divisione del nucleo in due nuclei figli.

*Cellule staminali:*

cellule non specializzate in grado di differenziarsi in altri tipi di cellule.

*Citocromo P450:*

famiglia di emoproteine coinvolta tra l'altro nella trasformazione di composti nocivi in derivati\* che possano essere degradati e eliminati da altri sistemi dell'organismo senza arrecare danno.

*Citoplasma:*

contenuto della cellula nel quale sono immersi gli organelli cellulari.

*Clone o clone cellulare:*

l'insieme di tutte le cellule derivate per discendenza diretta da una singola cellula.

*Codice del DNA:*

corrispondenza tra la sequenza di basi (triplette\*) del DNA e i singoli aminoacidi\*.

*Colonia:*

associazione di individui appartenenti alla stessa specie, che formano un insieme come se si trattasse di un unico organismo. La colonia si forma quando gli individui, generati per via agamica, non si staccano dall'organismo genitore. In una colonia possono differenziarsi ceppi diversi in conseguenza a mutazioni.

*Composto parentale:*

sostanza di partenza di una via metabolica.

*Cromatidio:*

ciascuna delle due copie di un cromosoma tenute insieme nel centromero.

*Cromosoma:*

corpuscolo che si trova all'interno del nucleo delle cellule eucariotiche\*, per lo più a forma di bastoncino. Contiene un lungo filamento di DNA avvolto su stesso, che porta centinaia o migliaia di geni.

*DNA ricombinante:*

molecola di DNA costruito per ricombinazione di segmenti di DNA di origine diversa, ottenuti per taglio operato dagli enzimi di restrizione\* e ricongiunti dagli enzimi ligasi.

*Derivato:*

composto originato mediante trasformazioni chimiche da un composto "progenitore" e a esso collegato nella struttura chimica.

*Effetti sterici:*

effetti relativi alla grandezza (ingombro) e forma spaziale delle molecole.

*Elettrofilo:*

ione o molecola che nel corso di una reazione tende ad acquistare elettroni formando un legame con una molecola o ione che presenti un eccesso di elettroni (nucleofilo).

*Elettroforesi:*

migrazione, sotto l'influenza di un campo elettrico, di ioni macromolecolari dotati di carica elettrica verso il catodo, se dotati di carica positiva, e verso l'anodo, se dotati di carica negativa. La differenza tra la velocità di migrazione delle varie sostanze dipende dalle loro cariche e dimensioni e costituisce un metodo utile per la separazione e analisi di sostanze altrimenti difficilmente frazionabili.

*Embrioni clonati:*

termine impiegato dai mezzi di comunicazione di massa per indicare embrioni ottenuti dalla fusione cellulare tra cellule (cellula ricevente e cellula donatore) appartenenti allo stesso clone\* cellulare.

*Enzima:*

proteina dotata di potere catalitico per l'accelerazione di una determinata reazione biochimica, capace di riconoscere con estrema specificità il proprio substrato\*, cioè la sostanza sulla quale agire, senza peraltro essere modificata.

*Epidemiologia:*

scienza che studia lo stato di salute o di malattia nelle popolazioni umane. I campi di azione si riferiscono a: acquisire informazioni sulla storia naturale delle malattie e descrivere l'evoluzione dello stato di salute di popolazioni nello spazio e nel tempo; individuare l'origine delle malattie la cui causa è sconosciuta e ridurre la frequenza di quelle note; pianificare e monitorare i programmi di controllo delle malattie; valutare i danni economici delle malattie e calcolare il rapporto costi/benefici delle azioni di controllo.

*Eucarioti:*

organismi formati da cellule nelle quali una membrana nucleare separa il nucleo dal citoplasma\*.

*Fenotipo:*

insieme dei caratteri visibili di un individuo, dovuti all'interazione tra i suoi geni\* e tra questi e l'ambiente. Il termine viene usato spesso in contrapposizione a genotipo\* che si riferisce esclusivamente al patrimonio genetico.

*Fingerprint:*

la visualizzazione della distribuzione di un certo numero di sequenze di nucleotidi\* che si ripetono in modo casuale nel genoma\* di ognuno. Ognuno di noi è caratterizzato da uno specifico fingerprint molecolare, diverso da quello degli altri.

*Gemelli monozigoti o identici:*

gemelli originati dallo stesso uovo fecondato (zigote), quindi con lo stesso patrimonio genetico, mentre i gemelli dizigoti o simili nascono da due zigoti diversi e sono assimilabili a fratelli condividendo il patrimonio genetico al 50%.

*Gene:*

segmento della molecola di DNA che codifica una specifica proteina ed è ereditato da una generazione all'altra.

*Gene oncosoppressore:*

gene controllore della proliferazione cellulare, che contrasta l'azione di eventuali oncogeni\*. Una sua inattivazione spesso contribuisce alla trasformazione della cellula verso il tumore.

*Gene p53:*

gene oncosoppressore che codifica la proteina p53 che svolge molte funzioni nella cellula incluso il controllo del ciclo cellulare.

*Gene reporter:*

gene che codifica un prodotto che viene utilizzato - poiché si può osservare e misurare con facilità - nello studio del controllo dell'espressione di un gene o di un gruppo di geni.

*Genoma o patrimonio genetico:*

l'insieme di tutti i geni\* di un individuo.

*Genotipo:*

assetto genetico di un individuo per quanto riguarda un determinato gene\*. Nel caso di mutazione\* dominante il genotipo corrisponde all'aspetto esterno dell'individuo, cioè al suo fenotipo\*.

*HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point):*

approccio organizzato e sistemico che sottopone a una attenta analisi sia le fasi produttive di un alimento sia tutte le altre fasi successive come lo stoccaggio, il trasporto, la conservazio-

ne fino alla vendita al consumatore finale, allo scopo di individuare i punti più a rischio (critici) per l'igiene del prodotto così da poter adottare dei sistemi di prevenzione adeguati.

*Idrocarburi policiclici aromatici:*

classe di composti organici, le cui molecole contengono esclusivamente atomi di carbonio e idrogeno (idrocarburi) e che sono formati dalla condensazione di più anelli benzenici. Tutti i composti della serie del benzene sono detti aromatici, pur non essendovi uno stretto rapporto tra struttura e aroma.

*Idrofobicità:*

tendenza di un composto a disciogliersi in sostanze non polari, in contrasto alla tendenza a sciogliersi in acqua (idrofilicità).

*Induzione enzimatica:*

fenomeno consistente nell'aumento della sintesi di uno o più enzimi\* in risposta a uno stimolo - rappresentato generalmente da determinate sostanze, chiamate induttori - ambientale.

*Inibizione enzimatica:*

diminuzione o soppressione dell'attività enzimatica causata da sostanze dette inibitori.

*Isoenzima:*

una delle diverse strutture chimiche nelle quali un enzima\* può presentarsi tra individui diversi in una stessa specie animale, o anche in uno stesso organismo a livello di distretti cellulari differenti.

*Legame covalente:*

interazione fra atomi che portano alla formazione di aggregati stabili e a struttura definita, basata sulla messa in comune di una o più coppie di elettroni periferici.

*Lentici:*

ecosistemi acquatici caratterizzati da uno scarso ricambio idrico, ad esempio laghi, zone umide e stagni.

*Lieviti:*

funghi unicellulari in grado di secernere enzimi\* che provocano fermentazioni.

*Lotici:*

ecosistemi acquatici caratterizzati da acque correnti, ad esempio fiumi.

*Meiosi:*

divisione cellulare nella quale il corredo dei cromosomi è dimezzato, avviene durante la formazione dei gameti.



*Mesocosmi:*

modelli sperimentali dell'ambiente naturale su media scala.

*Metabolita:*

sostanza prodotta da una reazione chimica di biotrasformazione.

*Micotossina:*

metabolita\* tossico per l'uomo e per gli animali, prodotto da un fungo.

*Muffe:*

organismi eterotrofi privi di clorofilla e con struttura filamentosa, ideale per la crescita sulle superfici e attraverso substrati solidi. Si sviluppano su materiali organici di varia natura: dagli alimenti, come pane, frutta, marmellata ecc, alle foglie, al legno, ecc.

*Mutagenesi:*

processo nel quale si verificano cambiamenti permanenti nel materiale genetico delle cellule.

*Mutazione:*

alterazione nella sequenza dei nucleotidi\* di un gene\*. Se si verifica nelle cellule germinali può essere ereditata dalla prole, mentre non è trasmessa se avviene in una cellula somatica, dove resta confinata al clone cellulare\* derivante dalla cellula mutata.

*Mutazione recessiva:*

una mutazione\* che non produce un difetto visibile nel fenotipo di un individuo quando questo porta nei propri cromosomi\* due copie diverse dello stesso gene\*, ma soltanto quando le due copie sono identiche ed entrambe mutanti per la stessa mutazione\*.

*Nucleotide:*

unità strutturale del DNA o RNA costituita da una base azotata\* A, G, C o T nel DNA e A, G, C o U nell'RNA, da una molecola di zucchero desossiribosio nel DNA, ribosio nell'RNA\* e da una di acido fosforico.

*Ocratossina:*

micotossina\* prodotta da specie del genere *Aspergillus* e *Penicillium*, quali a *A. ochraceus* e *P. viridicatum*. La più nota è la ocratossina A, contaminante di cereali, caffè, frutta secca e vino.

*Oncogene:*

gene che contribuisce a trasformare una cellula normale in cellula tumorale.

*Peso molecolare:*

peso in grammi di una mole (1023 molecole) di una specie chimica.

*Piastra di Petri:*

contenitore a forma di disco, poco profondo, utilizzato per la crescita di microrganismi su terreno di coltura solido.

*Polimorfismo:*

esistenza di alleli\* diversi di uno stesso gene\*, ciascuno dei quali compare con una frequenza non trascurabile nella popolazione.

*Protooncogene:*

gene\* potenzialmente capace di trasformarsi in oncogene\* a seguito di una mutazione\*.

*Radicale libero:*

frammento di molecole caratterizzato da un atomo avente un orbitale occupato da un solo elettrone (elettrone dispari o spaiato) estremamente reattivo a causa della tendenza a ristabilire il doppietto elettronico di legame.

*Reazione di Maillard:*

serie complessa di fenomeni biochimici che provoca, durante la cottura, la formazione di prodotti bruni e dal caratteristico odore.

*Recettori cellulari:*

strutture chimiche dalla conformazione geometrica particolare che, disposte sulla membrana cellulare o al suo interno, sono preposte a ricevere segnali o stimoli da sostanze con struttura chimica complementare.

*Restrizione (enzima di):*

enzima di origine batterica capace di tagliare il DNA\* in punti specifici. Ogni enzima di restrizione possiede un proprio sito di riconoscimento.

*RNA o acido ribonucleico:*

molecola polimerica molto simile alla molecola del DNA\*, ne differisce chimicamente per la presenza della base U al posto della T e dello zucchero ribosio al posto del desossiribosio.

*Saccharomyces cerevisiae:*

lievito\* di birra usato nella panificazione per far lievitare la pasta.

*Salmonella:*

gruppo di batteri parassiti degli animali e dell'uomo che causano le Salmonellosi. Queste sono distinte in maggiori, ad esempio la febbre tifoide e minori (forme gastroenteriche).

*Solubilità:*

misura della capacità di una sostanza solida di disciogliersi in un mezzo liquido.

*Statistica multivariata:*

insieme dei metodi statistici che considerano simultaneamente più variabili statistiche. Si contrappone alla statistica univariata in cui è considerata una sola variabile.

*Steatosi:*

aumento eccessivo di grasso in un tessuto, avvenuto in seguito a un processo infiltrativo o degenerativo. Particolarmente grave può essere quella epatica. Il grasso epatico rappresenta il 5% del peso dell'organo; si parla di steatosi quando questa percentuale è superata.

*Studio caso-controllo:*

metodo di indagine epidemiologica basato sulla rilevazione retrospettiva di dati ricavati da due gruppi di individui: i casi e i controlli. I casi sono costituiti da un gruppo di soggetti malati o affetti da particolari condizioni; i controlli sono un gruppo di soggetti con caratteristiche simili a quelle dei casi, che differiscono da questi ultimi solo per il fatto di non essere malati.

*Substrato:*

sostanza sulla quale agisce un enzima\* oppure qualsiasi mezzo semplice o complesso sul quale un organismo può attecchire o proliferare.

*Terreno di coltura:*

mezzo nutriente liquido o solido utilizzato in laboratorio per la crescita e la conservazione di microrganismi o di altre cellule viventi.

*Tossine:*

sostanze naturali di varia origine (microbica, animale e vegetale), per lo più a peso molecolare elevato e dotate di azione tossica nei confronti dell'uomo e degli animali.

*Tripletta:*

insieme di tre nucleotidi\*. Ogni tripletta codifica un particolare aminoacido\* ad eccezione delle tre triplette di terminazione che determinano la fine della catena proteica nascente.

*Vettore:*

frammento di DNA capace di replicarsi autonomamente, che è utilizzato per introdurre altri frammenti di DNA generalmente inerti in cellule ospiti dove si possono replicare ed essere espressi.

*Virus HBV:*

appartiene al gruppo dei virus epatici, virus che hanno come organo bersaglio il fegato. Indicati con le lettere da A a G differiscono per la via di trasmissione, il periodo di incubazione, ecc. Il virus HBV si trasmette per via parenterale (trasfusioni di sangue e emoderivati, uso di siringhe in comune, ecc.) o per via sessuale e materno-fetale.



## ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

### PUBBLICAZIONI PER LE SCUOLE

La collana per le scuole è nata nel 2001 e documenta iniziative su temi scientifici particolarmente significativi realizzate grazie al contributo del Ministero dell'Università e della Ricerca (già MIUR), in riferimento alla legge 6/2000 per la diffusione della cultura scientifica.

- 2001 Maria Cristina Barbaro e Cecilia Bedetti (Atti a cura di). L'Istituto Superiore di Sanità e la tutela della salute. Roma, 26 marzo e 9 aprile 2001: Istituto Superiore di Sanità, 2001.
- 2002 Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini (a cura di). Le nuove droghe: spunti per un'azione didattica. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2002.
- 2003 Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini (a cura di). Le biotecnologie in medicina: spunti per un'azione didattica. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2003.
- 2004 Cecilia Bedetti e Paola De Castro (a cura di). La doppia elica vista dai ragazzi. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2004.
- 2005 Cecilia Bedetti e Paola De Castro (Atti a cura di). Alcuni aspetti del dilemma energia-ambiente nelle società moderne. Roma, 25 marzo 2004: Istituto Superiore di Sanità, 2005.
- 2005 Cecilia Bedetti e Anna Bertini (a cura di). Recenti tematiche in microbiologia: spunti per un'azione didattica. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2005.
- 2006 Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini (Atti a cura di). Segnali sul fumo. Conoscenze scientifiche e indicazioni strategiche. Roma, 15 marzo 2005: Istituto Superiore di Sanità, 2006.
- 2006 Cecilia Bedetti e Maria Cristina Barbaro (a cura di). A tavola con i microrganismi: spunti per un'azione didattica. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2006.
- 2007 Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Maria Rossi (a cura di). Le sostanze chimiche, l'ambiente e noi: spunti per un'azione didattica. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2007.

I volumi della collana sono disponibili online sul sito dell'Istituto Superiore di Sanità all'indirizzo [www.iss.it](http://www.iss.it), sezione pubblicazioni.