

Rivalutazione dei meccanismi cellulari coinvolti nella tossicità del Cadmio

A.Fumagalli¹, N.I. Kramer¹, J. Fink-Gremmels¹

¹Istituto per la scienza della valutazione del rischio (IRAS), Università di Utrecht, Paesi Bassi

Introduzione

La tossicità del cadmio (Cd) è stata scoperta quasi 150 anni fa, tuttavia, a causa della quasi inevitabile esposizione degli esseri umani a questo elemento e di un meccanismo di tossicità non ancora chiarito, desta ancora preoccupazione.

Due sono le principali vie di esposizione per l'uomo al Cd: alimentare e inalatoria. Poiché Cd è un elemento naturalmente presente nel suolo, viene bio-accumulato in diverse piante e successivamente negli animali e nell'uomo dopo il consumo di alimenti di origine vegetale, in particolare cereali. Inoltre, il Cd contenuto nelle sigarette o liberato durante la lavorazione di metalli non ferrosi può essere inalato.

Dopo l'assorbimento Cd esercita effetti tossici in diversi organi quali fegato, reni, polmoni, ossa, cervello, sistema nervoso centrale, cuore, seno e testicoli. Cd è stato classificato anche dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) come agente cancerogeno di classe I. Nonostante questi effetti tossici ben definiti, il meccanismo cellulare responsabile del danno alle cellule rimane solo parzialmente compreso. È generalmente accettato che lo stress ossidativo giochi un ruolo fondamentale nella tossicità del Cd, ma resta da chiarire se la tossicità cellulare sia dovuta al Cd, alle specie reattive dell'ossigeno (ROS) prodotte dal Cd, o dai metaboliti secondari prodotti dal Cd o dai ROS.

Materiali e Metodi

La linea cellulare umana isolata da un carcinoma epatico (HepG2) è stata utilizzata per stabilire la citotossicità del Cd. A tal fine, la vitalità cellulare è stata misurata mediante saggio MTT, seminando le cellule per diversi intervalli di tempo ed esponendole per 24 hrs a crescenti concentrazioni di Cd. In secondo luogo, l'espressione di mRNA di diversi geni, quali: Vimentina, N-Caderina, Metallothioneina-2, p21, p53, E-Caderina, P4501A1, Cox-2 e HSP-70 è stata quantificata mediante q-PCR. q-PCR eseguita sulle HepG2 coltivate per 48 ore in piatti da 96 pozzetti per raggiungere la giusta confluenza e poi esposte per 24 ore a diverse concentrazioni di Cd.

Risultati e discussione

Esaminando i risultati del test di tossicità si evince che il tempo di coltivazione influenza notevolmente la tossicità del Cd. In particolare all'aumentare del tempo passato in coltura si riduce la citotossicità.

I risultati dell'espressione genica hanno mostrato che all'aumentare della concentrazione di Cd aumenta l'espressione di diversi geni tra cui Vimentina, p21, HSP-70, MT-2 e P4501A1. L'induzione di CYP4501A è sorprendente, poiché è noto che questo gene è represso durante lo stress ossidativo indotto da Cd. Tale induzione è ben confermata e comunemente riconosciuta in letteratura. Unendo i risultati di questa ricerca con quelli presenti in letteratura, abbiamo ipotizzato un nuovo meccanismo di tossicità del Cd. Se il Cd entrando nella cellula stimola il rilascio dell'acido arachidonico (AA), come descritto precedentemente, AA e Cd possono interferire con il complesso III della catena respiratoria mitocondriale innescando la produzione di ROS. Ancora più importante, la forma libera di AA è un attivatore endogeno del recettore per gli idrocarburi arilici (AhR). Una volta attivato AhR viene traslocato nel nucleo dove si lega ad elementi di trascrizione, come XRE, modulando l'espressione di diversi geni. La nostra ipotesi di modalità di azione è supportata dai risultati di una indotta espressione di Vimentina, p21 e P4501A1 a seguito dell'esposizione delle HepG2 a diverse concentrazioni di Cd.