

ALL. 2

ALTERAZIONI DEL RECETTORE β -LINFOCITARIO IN UN GRUPPO DI LAVORATORI PROFESSIONALMENTE ESPOSTI A PIOMBO INORGANICO

S. GOVONI - C. FERNICOLA* - L. CONIGLIO*
P. BARBIERI* - A. PADOVANI - M.S. MAGNONI
S. DI GIOVINE - M. TRABUCCHI**

Istituto di Farmacologia e Farmacognosia - Università di Milano

* U.S.S.I. 41, Unità Operativa Tutela Salute e Luoghi di Lavoro, Brescia

** Cattedra di Tossicologia, II - Università di Roma

SOMMARIO

In un gruppo di soggetti maschi esposti a Piombo inorganico sono stati messi in relazione i valori di piombemia (PbB) e di zinco protoporfirina plasmatica (Zpp) con parametri che caratterizzano le funzioni del recettore β dei linfociti. Il campione è stato diviso in tre gruppi: A) i soggetti con PbB e Zpp < 40 mcg/dl; B) soggetti con entrambi i parametri di esposizione > 40 mcg/dl; C) soggetti con Zpp > 40 mcg/dl e PbB nei limiti. Nei gruppi B e C la densità del β recettore linfocitario è ridotta mediamente del 34% mentre non si osservano variazioni significative della affinità. Il risultato è in linea con osservazioni in vitro che indicano che il Pb inibisce a concentrazioni micromolari il legame al β recettore linfocitario dello specifico ligando marcato (iodocianopindolo). Il decremento della densità dei recettori β nei lavoratori esposti sembra presente anche in soggetti con storia di esposizione discontinua e disomogenea.

INTRODUZIONE

Il piombo esercita un'azione neurotossica mediata a vari livelli della neurotrasmissione, quale la sintesi, la captazione, la liberazione di trasmettitori e l'assetto dei recettori (1,2). Gli studi condotti per lo più in modelli animali di esposizione hanno ricevuto conferme anche nell'uomo, mediante le analisi nelle urine dei metaboliti di alcuni trasmettitori, in particolare delle catecolamine (3,4). Nel presente studio è stato utilizzato un approccio indiretto, usando un "tessuto" di facile accessibilità, i linfociti, come modello per indagare in vivo e

in vitro l'effetto del piombo sul recettore β -adrenergico. Infatti i linfociti posseggono un recettore β legato ad un'adenilciclasi (5) che in particolari situazioni può modificarsi in risposta alle catecolamine (6) secondo dinamiche molto simili a quelle osservate nei recettori β -adrenergici del SNC. L'effetto del metallo sul recettore β linfocitario potrebbe quindi riflettere eventi a livello di tessuti non accessibili, in particolare l'encefalo.

MATERIALI E METODI

E' stato individuato un gruppo di 37 lavoratori, rappresentativi di diverse condizioni di esposizione professionale in ditte legate alla produzione di oggetti in peltro e di pallini da caccia, o al recupero mediante fusione di metalli non ferrosi. I soggetti affetti da manifeste condizioni patologiche non correlate con l'esposizione al piombo sono stati esclusi dal campione. Il prelievo è stato effettuato, dopo aver ottenuto il consenso dell'interessato, a digiuno tra le 8 e le 9 del mattino. Per la preparazione dei linfociti sono stati utilizzati 20 ml di sangue eparinizzato. Sullo stesso campione sono state dosate PbB e Zpp, rispettivamente mediante spettrometria ad assorbimento atomico ed ematofluorimetria. Per la valutazione dei valori di PbB e Zpp si è utilizzata la tabella proposta da Alessio, Bonaretti e Chiappino (7).

I linfociti sono stati isolati secondo la metodica descritta da Boyum (8). Le caratteristiche del recettore β sono state studiate utilizzando lo iodocianopindololo ¹²⁵I come ligando selettivo (9).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Il piombo inorganico aggiunto in vitro come acetato di piombo a linfociti prelevati da soggetti volontari (gli stessi autori della ricerca) (inibisce il legame dello iodocianopindololo a concentrazioni micromolari. L'inibizione massima esercitata è del 42%, con una IC₅₀ di 8.7 μ M. Sulla base di queste premesse sono state esaminate le caratteristiche di legame del β recettore linfocitario in un gruppo di lavoratori professionalmente esposti a Pb inorganico.

I dati riportati in tabella 1 indicano l'esistenza di una riduzione media della densità dei recettori β linfocitari del 35%. La modificazione del legame è presente sia nel gruppo con entrambi gli indici di esposizione (PbB e Zpp) > 40 μ g/dl sia nei soggetti con la sola Zpp > 40 μ g/dl e PbB normale.

L'azione inibitoria del piombo osservata a livello del β recettore linfocitario sia in vitro che nei soggetti esposti è in accordo con l'osservazione che il Pb in vitro può inibire numerosi tipi di recettore (10) e con dati precedenti da noi stessi ottenuti in un modello animale

di esposizione ed in adrenergici in un cerebellare. (11)

Dati preliminari
ratto esposto cronic
un incremento reatt:
vitro il piombo è in
che tale risposta,
manifesta nell'uomo.

CARATTERISTICHE DEL

Gruppo e numero (N)	Età (anni)
A (11)	33.3 $\pm$ 2
B (11)	34.3 $\pm$ 3
C (15)	34.2 $\pm$ 3

*P<0.05 rispetto a

I valori sono espres

A : PbB e Zpp < 4

Zpp > 40 μ g/dl.

Anche se non
recettore β linfocit
sta immunitaria è p
importanti ai fir
dell'individuo. D'a
rappresentare un m
popolazioni di rece
cardiovascolare e l

E' inoltre imp
adrenergico sono
piombemia nella nor
un'esposizione tras
durata e non legat

nergico. Infatti i
nilciclas (5) che
a alle catecolamine
ate nei recettori
recettore β linfo-
di tessuti non ac-

rappresentativi di
ditte legate alla
cia, o al recupero
ffetti da manifeste
one al piombo sono
fettuato, dopo aver
a le 8 e le 9 del
ti utilizzati 20 ml
state dosate PbB e
rbimento atomico ed
di PbB e Zpp si è
e Chiappino (7).
todica descritta da
state studiate uti-
attivo (9).

acetato di piombo a
si autori della ri-
lo a concentrazioni
42%, con una IC₅₀ di
esaminate le carat-
n un gruppo di lavo-

nza di una riduzione
del 35%. La modifi-
trambi gli indici di
i con la sola Zpp >

vello del β recettore
ti è in accordo con
si tipi di recettore
n un modello animale

di esposizione ed indicanti una riduzione della densità dei recettori β adrenergici in un altro tessuto, cioè nei microvasi della corteccia cerebellare. (11)

Dati preliminari, utilizzando il modello animale, indicano che nel ratto esposto cronicamente in vivo a Pb il recettore linfocitario mostra un incremento reattivo del legame dello iodocianopindolo, anche se in vitro il piombo è inibitorio. I dati sui lavoratori esposti suggeriscono che tale risposta, probabilmente compensatoria dell'inibizione, non si manifesta nell'uomo.

CARATTERISTICHE DEL RECETTORE β LINFOCITARIO IN ESPOSTI PROFESSIONALMENTE A PIOMBO INORGANICO

Gruppo e numero (N)	Età (anni)	Piombemia ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	Zpp ematica ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	β -RECETTORE	
				Bmax (f.moli/mg prot)	Kd (pM)
A (11)	33.3 $\pm$ 2.6	23.4 $\pm$ 1.4	33.5 $\pm$ 1.3	81.2 $\pm$ 11.0	21.4 $\pm$ 1.2
B (11)	34.3 $\pm$ 3.5	67.4 $\pm$ 12.3*	211.7 $\pm$ 39.5*	51.0 $\pm$ 6.2*	19.6 $\pm$ 2.4
C (15)	34.2 $\pm$ 3.2	26.4 $\pm$ 2.3	89.5 $\pm$ 29.6*	47.9 $\pm$ 5.7*	18.9 $\pm$ 1.2

*P<0.05 rispetto ad A, Dunnet t-test bicodato.

I valori sono espressi come medie $\pm$ S.E. (range).

A : PbB e Zpp < 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$; B : PbB e Zpp > 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$; C : PbB < e Zpp > 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

Anche se non si conosce l'effetto diretto della diminuzione del recettore β linfocitario sulla funzionalità del linfocita e sulla risposta immunitaria è possibile ipotizzare che le alterazioni possono essere importanti ai fini dell'espressione della competenza immunitaria dell'individuo. D'altra parte, il recettore β del linfocita potrebbe rappresentare un modello predittivo dell'azione del piombo su altri popolazioni di recettori presenti in distretti diversi come il sistema cardiovascolare e l'encefalo.

E' inoltre importante osservare che modificazioni del recettore β adrenergico sono riscontrabili anche nel gruppo di lavoratori con piombemia nella norma, nei quali però l'elevato livello di Zpp indica un'esposizione trascorsa. Il danno funzionale sarebbe quindi di lunga durata e non legato ad un effetto diretto del piombo a livello di

membrana. Ciò indica una "tossicità" del metallo indotta da un effetto diretto irreversibile sulla dinamica recettoriale o da conseguenze indirette sul recettore stesso delle complesse alterazioni metaboliche, evidenziate dall'innalzamento dei livelli plasmatici di Zpp.

Un'analisi ulteriore dei dati ha messo in evidenza l'impossibilità di correlare direttamente in maniera significativa, le variazioni della Bmax del recettore β linfocitario sia con i livelli di PbB che con quelli di Zpp plasmatica. Questo fatto confermerebbe l'indicazione che il fenomeno biologico non è direttamente dipendente dai parametri di esposizione considerati, ma è collegato a processi di tossicità complessi, che coinvolgono sistemi diversi sui quali si conosce ancora molto poco.

La variazione del recettore β sottolinea ulteriormente il rischio che l'esposizione al piombo possa indurre alterazioni diffuse e di lunga durata dell'omeostasi biologica ampliando le ipotesi tradizionali sui danni del metallo ed imponendo una ancora più accurata prevenzione dell'esposizione nei luoghi di lavoro.

BIBLIOGRAFIA

1. G.P. COOPER and R.S. MANALIS: Influence of heavy metals on synaptic transmission: a review. *Neurotoxicol.*, 4: 69-84, 1983.
2. C. WINDER and I. KITCHEN: Lead neurotoxicity: a review of the biochemical, neurochemical and drug induced behavioral evidence. *Progress in Neurobiol.*, 22: 59-87, 1984.
3. E.K. SILBERGELD and J.J. CHISOLM: Lead poisoning: altered urinary catecholamine metabolites as indicators of intoxication in mice and children. *Science*, 192: 153-158, 1976.
4. J.J. CHISOLM and E.K. SILBERGELD: The effects of lead exposure in young children on urinary excretion of homovanillic acid. *Proc. Int. Symp. on Heavy Metals*, Amsterdam, pp. 546, 1981.
5. J.F. KRALL, M. CONNELLY and M.L. TUCK: Acute regulation of beta adrenergic catecholamine sensitivity in human lymphocytes. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 214: 554-560, 1980.
6. K.K.P. HUI and M.E. CONNOLLY: Increased numbers of beta receptors in orthostatic hypotension due to autonomic dysfunction. *New. Engl. J. Med.*, 304 (24): 1473-1476, 1981.
7. L. ALESSIO, T. BONARETTI, G. CHIAPPINO: L'intossicazione professionale da Piombo inorganico, Regione Lombardia, Assessorato alla Sanità, 1978.
8. A. BOYUM: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Chr. Lab. Inves.*, 21 (97): 77-89, 1968.
9. K.P. MINNEMAN: beta-adrenergic receptors in rat liver. *col. Exp. Ther.*
10. S.C. BONDY: Affinity receptors for lead. *Toxicol.*, 46:
11. S. GOVONI, L. DECEASED: decreased density of beta receptors in exposed rats. 1983.

9. K.P. MINNEMAN, A. HEDBERG and P.B. MOLINOFF: Comparison of beta-adrenergic receptor subtypes in mammalian tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 211: 502-508, 1979.
10. S.C. BONDY and A.K. AGRAWAL: The inhibition of cerebral high affinity receptor sites by lead and mercury compounds. *Arch. Toxicol.*, 46: 249-256, 1980.
11. S. GOVONI, L. LUCCHI, M.S. MAGNONI, P.F. SPANO and M. TRABUCCHI: Decreased density of beta-receptors in brain capillaries of lead exposed rats. *Dev. in the Science and Practice Toxicol.*, 521-524, 1983.