

Corso integrato di Igiene, Medicina di Comunità,
Medicina Legale, Medicina del Lavoro

Medicina del Lavoro

Prof. Maurizio Manno

Lezione 3

Le epatopatie professionali



OSSERVAZIONE DI EPATOPATIE TOSSICHE



RICERCA DI MODELLI SPERIMENTALI DI EPATOTOSSICITA'



INTERESSE NEI MECCANISMI DI EPATOTOSSICITA'



PREVENZIONE DELLE EPATOPATIE TOSSICHE



VALIDAZIONE DI MODELLI SPERIMENTALI DI EPATOTOSSICITA'



STUDIO DEI MECCANISMI DI EPATOTOSSICITA'



Il chiarimento del meccanismo d'azione di un epatotossico richiede l'individuazione di:

- 1) TIPO e REATTIVITA' dei metaboliti reattivi prodotti.
- 2) SEDI ed ENZIMI responsabili della loro formazione.
- 3) BERSAGLIO MOLECOLARE CRITICO.
- 4) EVENTI SECONDARI CRITICI per l'epatotossicità.
- 5) SISTEMI DI DIFESA e FATTORI MODULANTI la tossicità.



SISTEMI ENZIMATICI E NON ENZIMATICI DI DIFESA CELLULARE

- epossido idrolasi
- glutathione transferasi
- glutathione perossidasi
- catalasi
- superossido dismutasi
- glutathione
- cisteina
- Vit. E



MECCANISMI DI EPATOTOSSICITA'

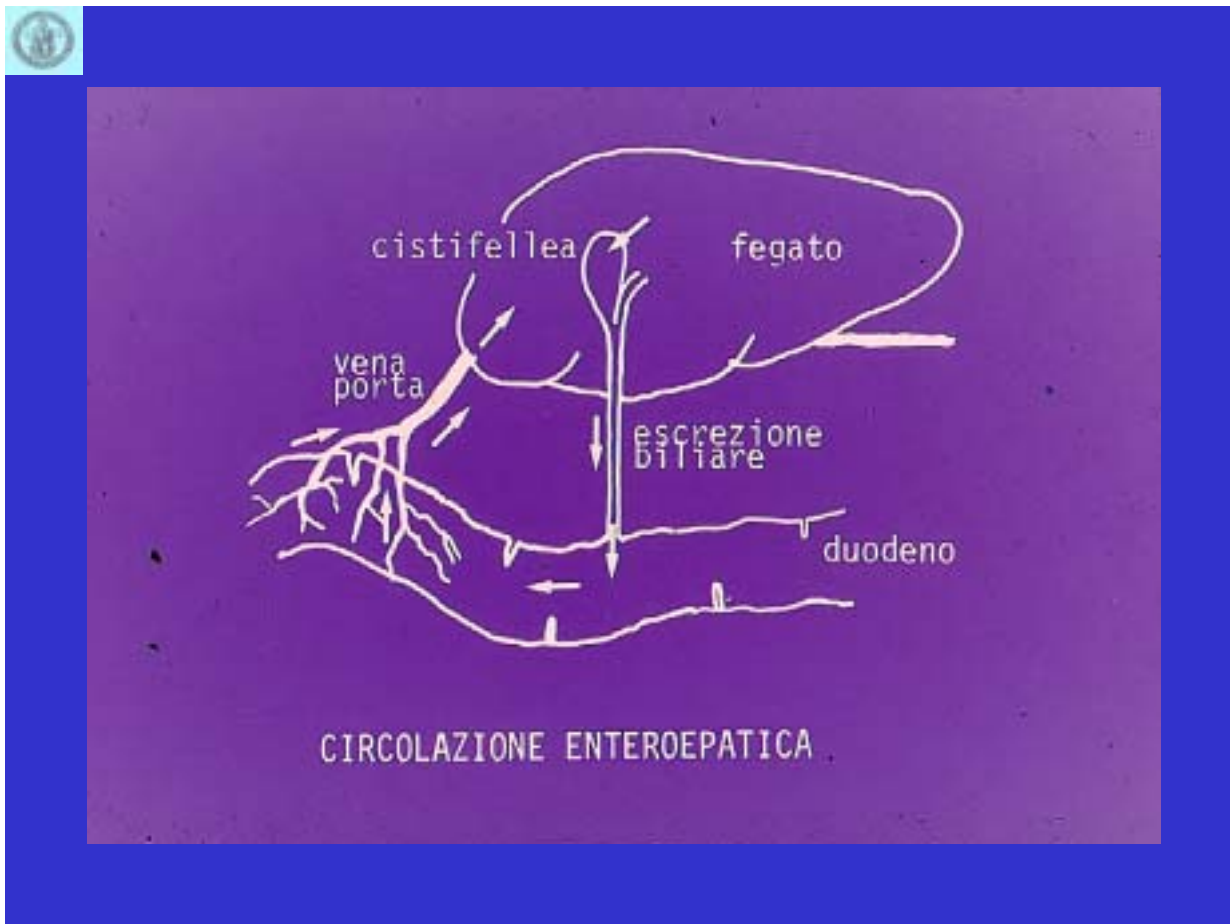
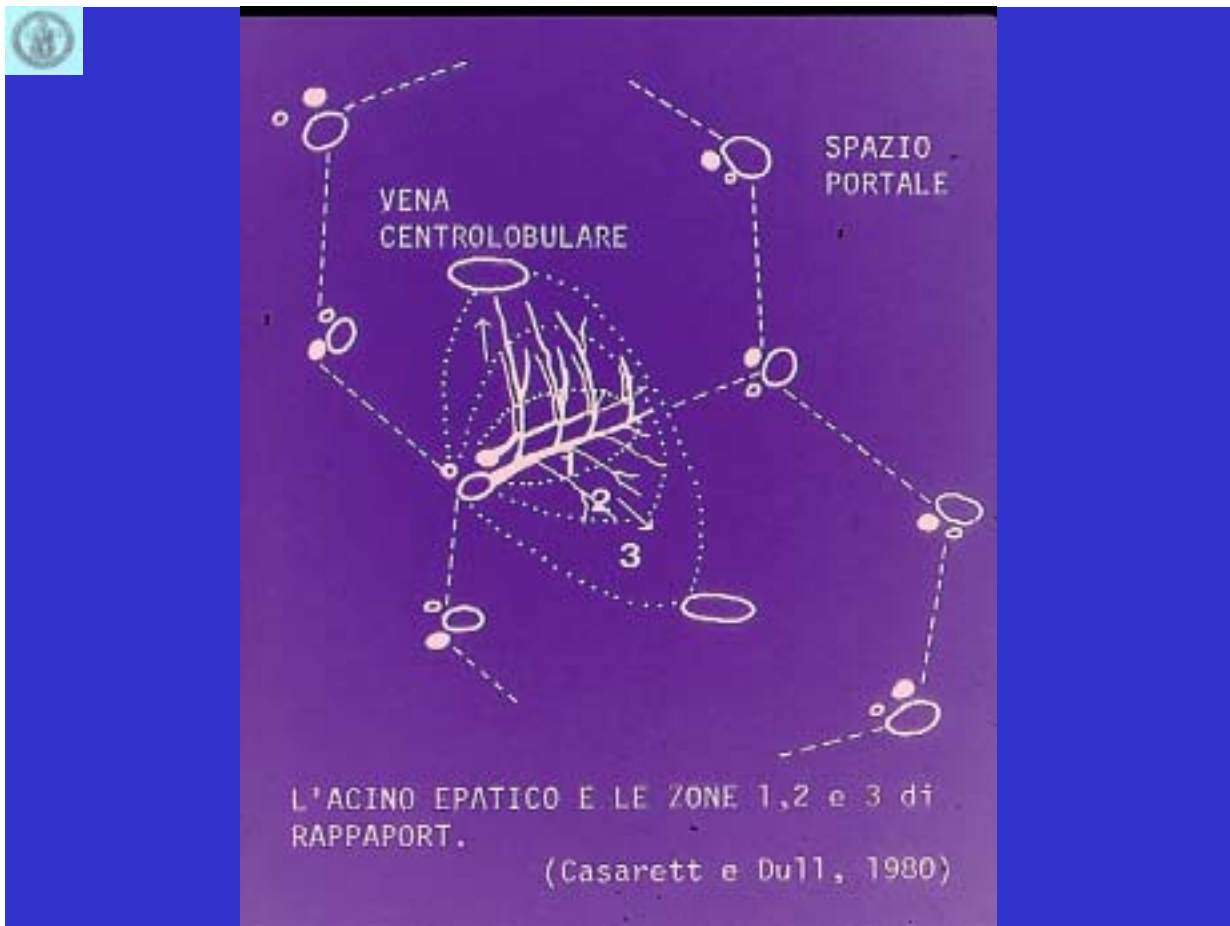
1. Interferenza con processi metabolici essenziali dell'epatocita (sint. prot., ATP, sali biliari, ecc.)
2. Danno a strutture essenziali dell'epatocita (P.L. delle membrane, alterazioni citoscheletriche, ecc.)
3. Distruzione dell'epatocita nel corso di reazioni immunologiche (AC- o cellule-mediate)
4. Carcinogenesi (iniziazione, promozione, progressione)
5. Interferenza con l'apporto di sangue (?)
6. Infettivo (virus)
7. Aggravamento di patologie preesistenti (porfiria)

(modificata da Stricker & Spoelstra, 1985)



IL LOBULO EPATICO

(Casarett e Dull, 1980)





ATTIVAZIONE

La maggior parte dei tossici epatici necessitano di attivazione a metaboliti o intermedi reattivi che interagiscono irreversibilmente con diverse componenti della cellula epatica.



ESEMPI DI METABOLITI, INTEREDI O SPECIE REATTIVI EPATOTOSSICI

Radicali liberi

- $\cdot\text{CCl}_3$ (triclorometile)
- $\text{CF}_3\dot{\text{C}}\text{HCl}$ (1,1,1-trifluoroetile)

Elettrofili

- $\text{H}_2\text{C}^+ \text{---} \text{CHCl}$ (monocloro-oxirano)
-  (bromobenzene epossido)

Specie reattive d'ossigeno

- $\cdot\text{O}_2^-$ (anione superossido)
- $\cdot\text{OH}$ (radicale idrossile)
- H_2O_2 (perossido d'idrogeno)



INTERAZIONE COL BERSAGLIO

I metaboliti o intermedi reattivi possono interagire con diverse strutture cellulari:

- 1) bersagli critici responsabili della tossicità ("CRITICAL TARGETS")
- 2) altre strutture cellulari ("NON CRITICAL TARGETS")
- 3) sistemi di difesa ("SCAVENGERS").



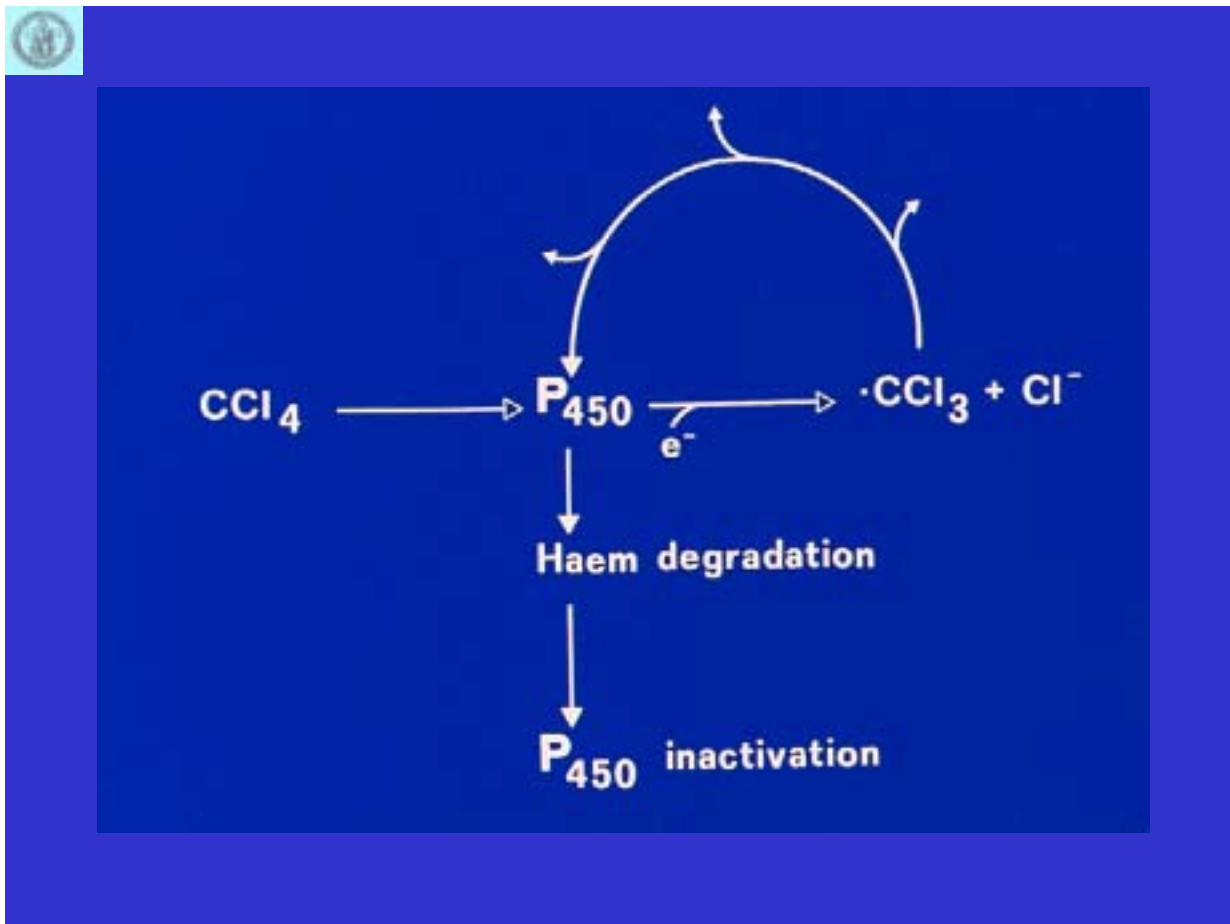
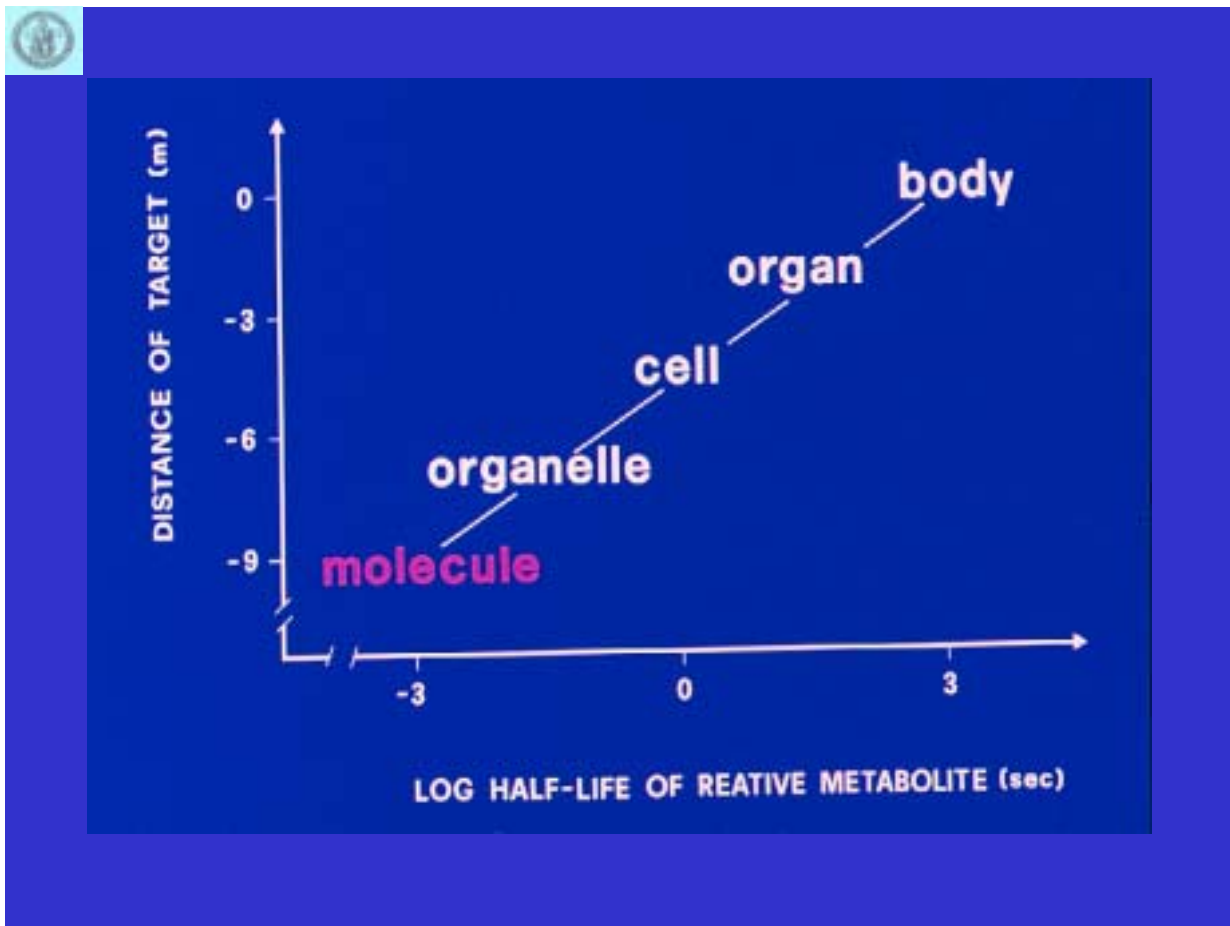
REATTIVITA' E DIFFUSIONE DEI METABOLITI REATTIVI

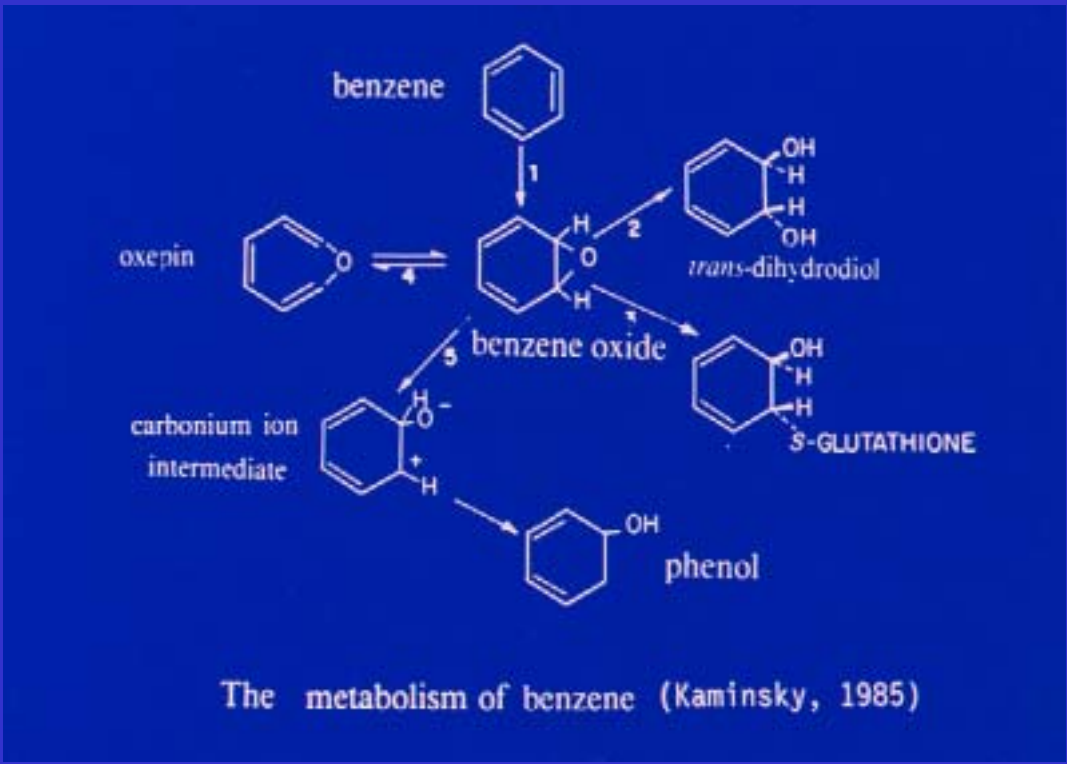
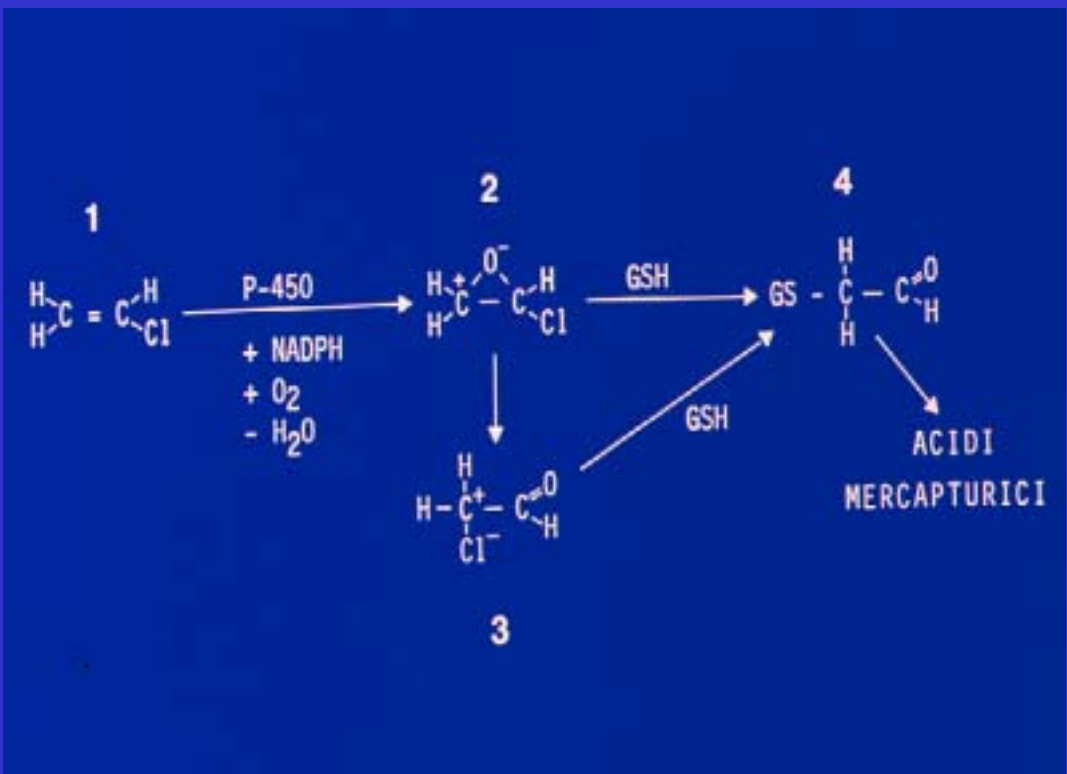
emivita

sito d'azione

ULTRACORTA	- sito di formazione (inibitori "suicidi")
CORTA	- nella cellula di formazione (epatocita)
INTERMEDIA	- in tessuti vicini o nel sangue, comunque nell'organo di attivazione (fegato)
LUNGA	- potenzialmente tutti gli organi irrorati
ULTRALUNGA	- potenzialmente tutti gli organi o tessuti

(modificata da King, 1987)

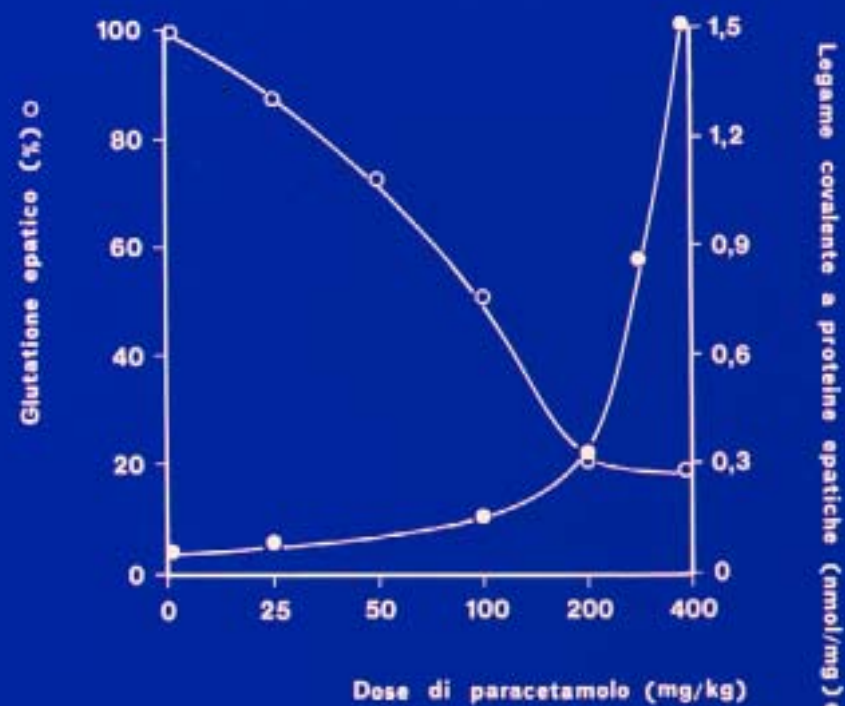


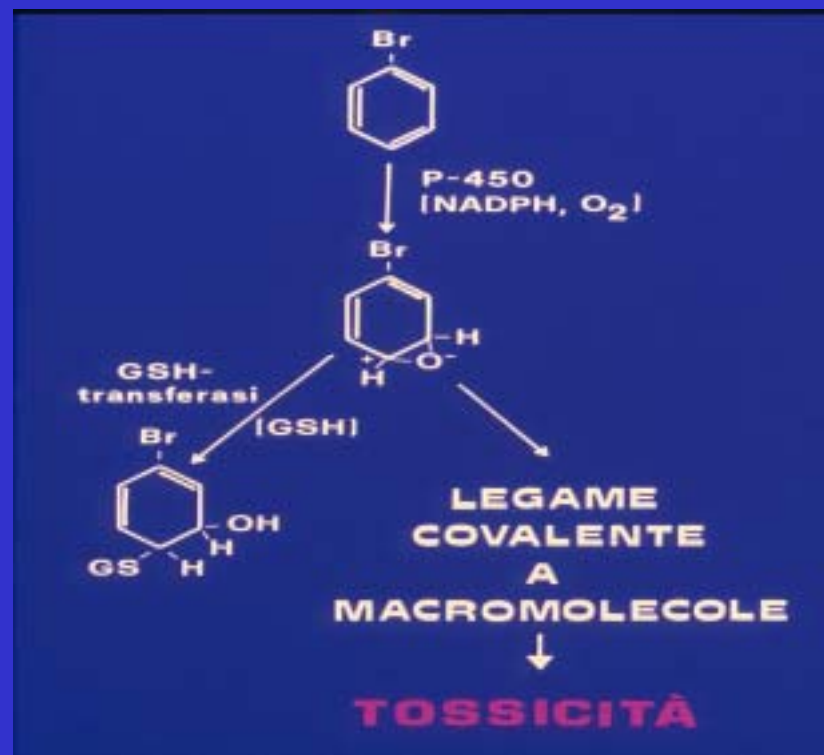




CONCENTRAZIONE CRITICA

Perché si manifesti l'epatotossicità è necessario che sia raggiunta quella concentrazione critica del tossico nell'epatocita che porti alla formazione di metaboliti o intermedi reattivi in quantità tali da eccedere le possibilità di difesa o riparazione.





CLASSIFICAZIONE DELLE EPATOPATIE TOSSICHE SECONDO ZIMMERMANN (1968)

(meccanismo d'azione)

1. danno epatotossico intrinseco
 - diretto
 - indiretto
2. idiosincresia
 - ipersensibilita' (allergica)
 - anomalia metabolica (genetica)

(morfologica)

1. citotossica
2. colestatica
3. mista

(tipo di esposizione)

1. occupazionale o accidentale
2. iatrogena



Tab. xx.3 - Classificazione dei composti epatotossici in base al meccanismo d'azione (*esempi*).

a) *Epatotossici intrinseci*

- a meccanismo diretto:
 - senza attivazione metabolica (*fosforo*)
 - con attivazione metabolica (CCl_4)
- a meccanismo indiretto (*etanolo*)

b) *Epatotossici idiosincrasici*

- su base genetica (*esaclorobenzene*)
- su base immunoallergica (*alotano*)

c) *Induttori (DDT, PCB, ecc.) ed inibitori (CS_2 , CVM, ecc.) enzimatici*

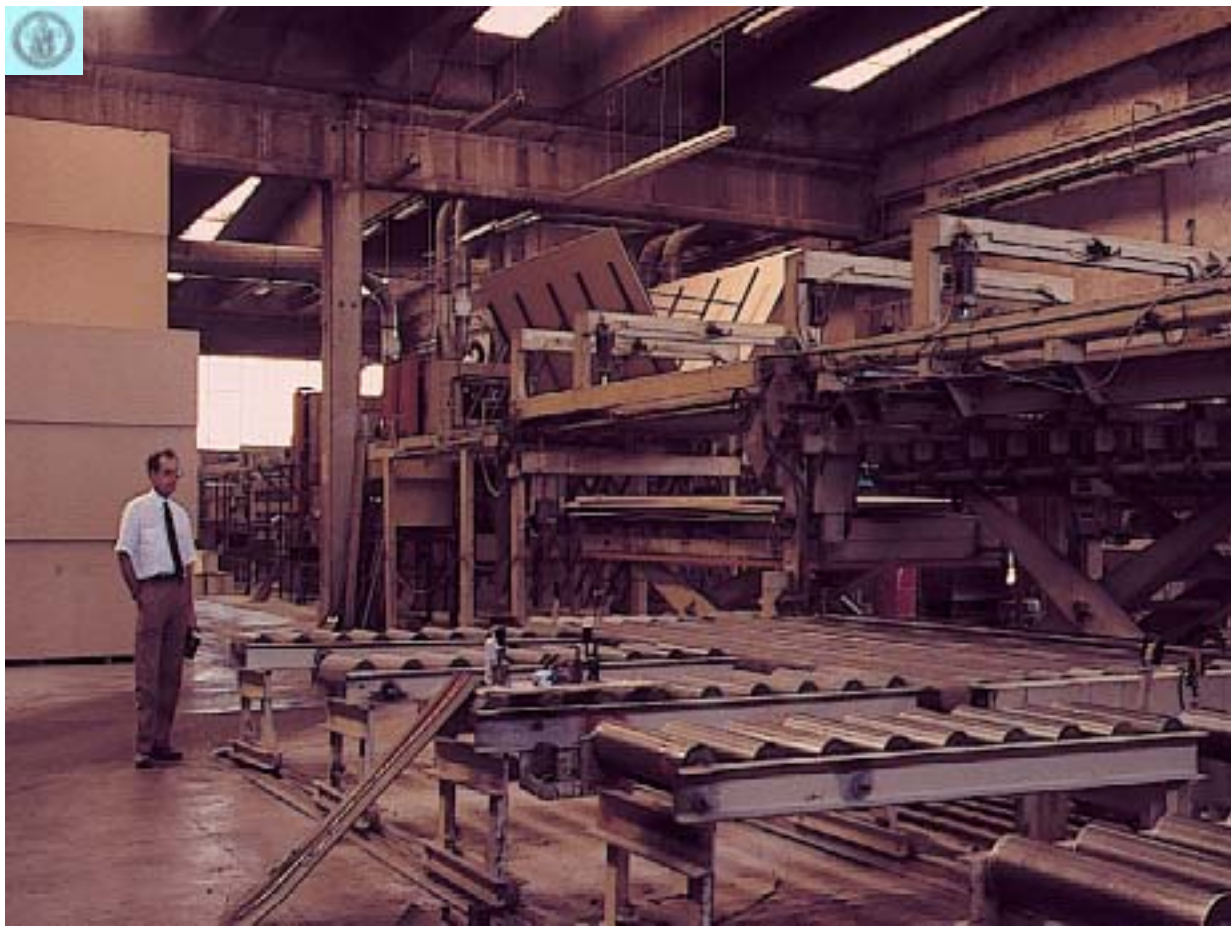
d) *Cancerogeni*

- epiteliali (CCl_4 e *1,2-dicloroetano*, solo nell'animale)
- endoteliali (*cloruro di vinile*, sia nell'uomo che nell'animale)





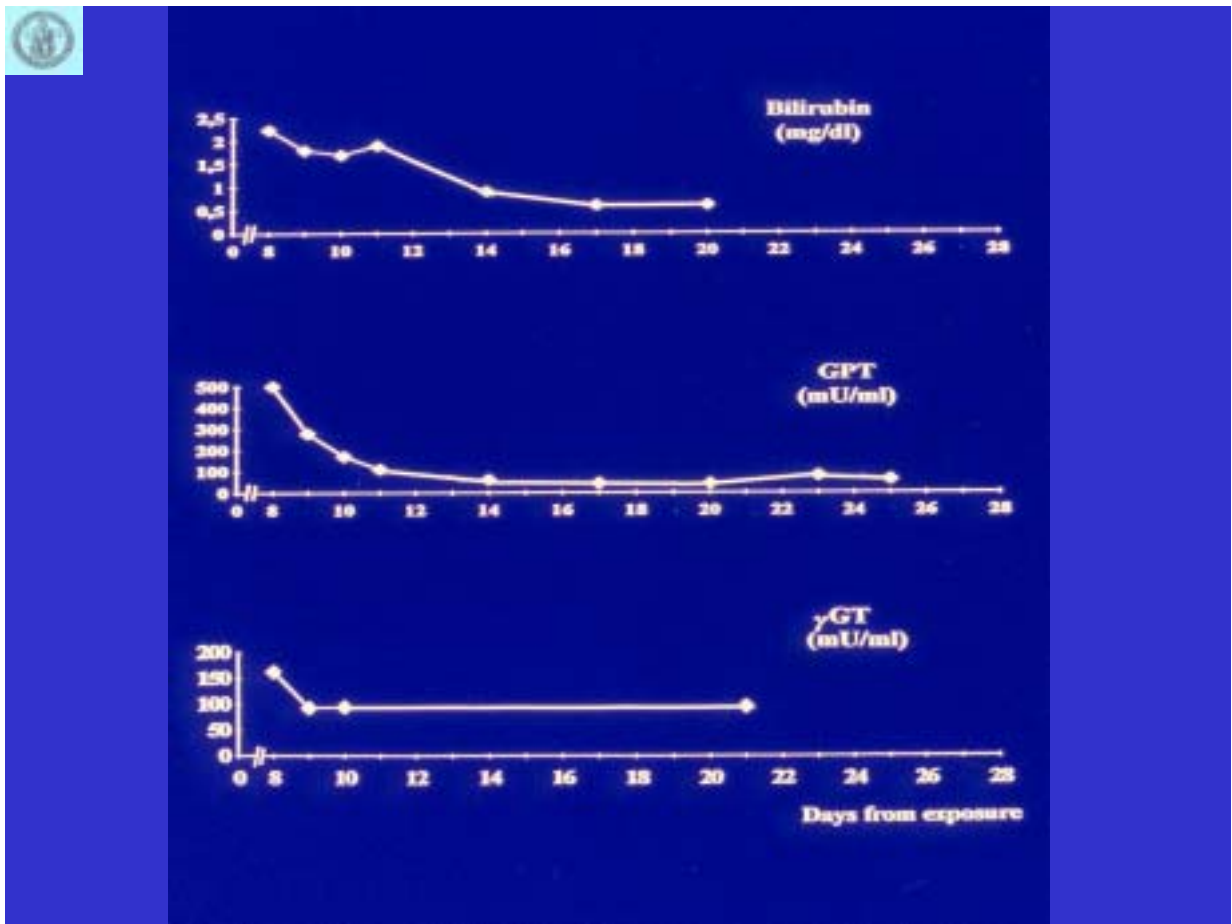


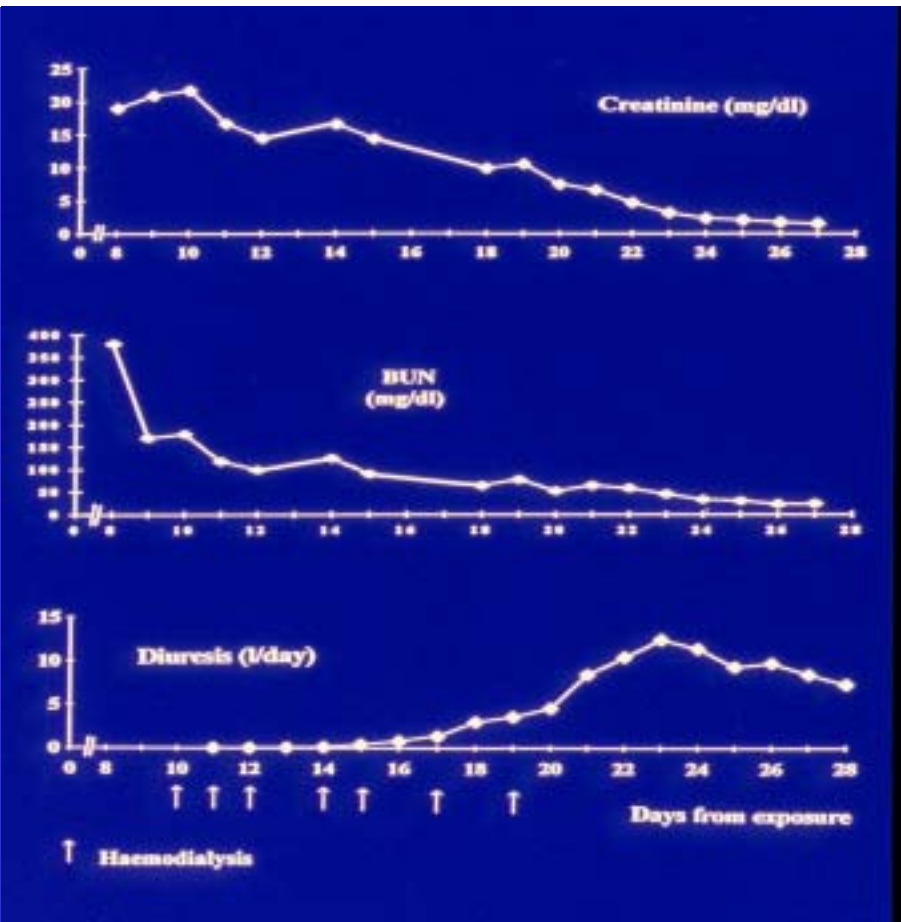




Production cycle of poplar particle boards







Sample*	CCl ₄ in fire-extinguisher liquid (% of total)
1 st	15
2 nd	5
3 rd	2.5

* Samples were taken from subsequent fractions of liquid let out freely from the extinguishing system.



SUBJECT	D.T.	G.R.	G.A.	W.R.	S.T.
CCl₄ in blood (ng/l)					
1st sample	326	65	391	228	178
2nd sample	140	173	134	98	68
CCl₄ in urine (ng/l)					
	331	451	284	239	75



SUBJECT	D.T.	G.R.	G.A.	W.R.	S.T.
Anamnesis					
- age (years)	36	36	42	52	31
- ethanol (g/day)	>120	< 50	< 40	< 25	< 30
- drugs	valium*	NSAIDs**	-	-	-
- smoking (cig./day)	60-70	-	-	ex smoker	15-18
- symptoms	+	-	-	-	-
* approx. 12 mg/day ** occasionally					

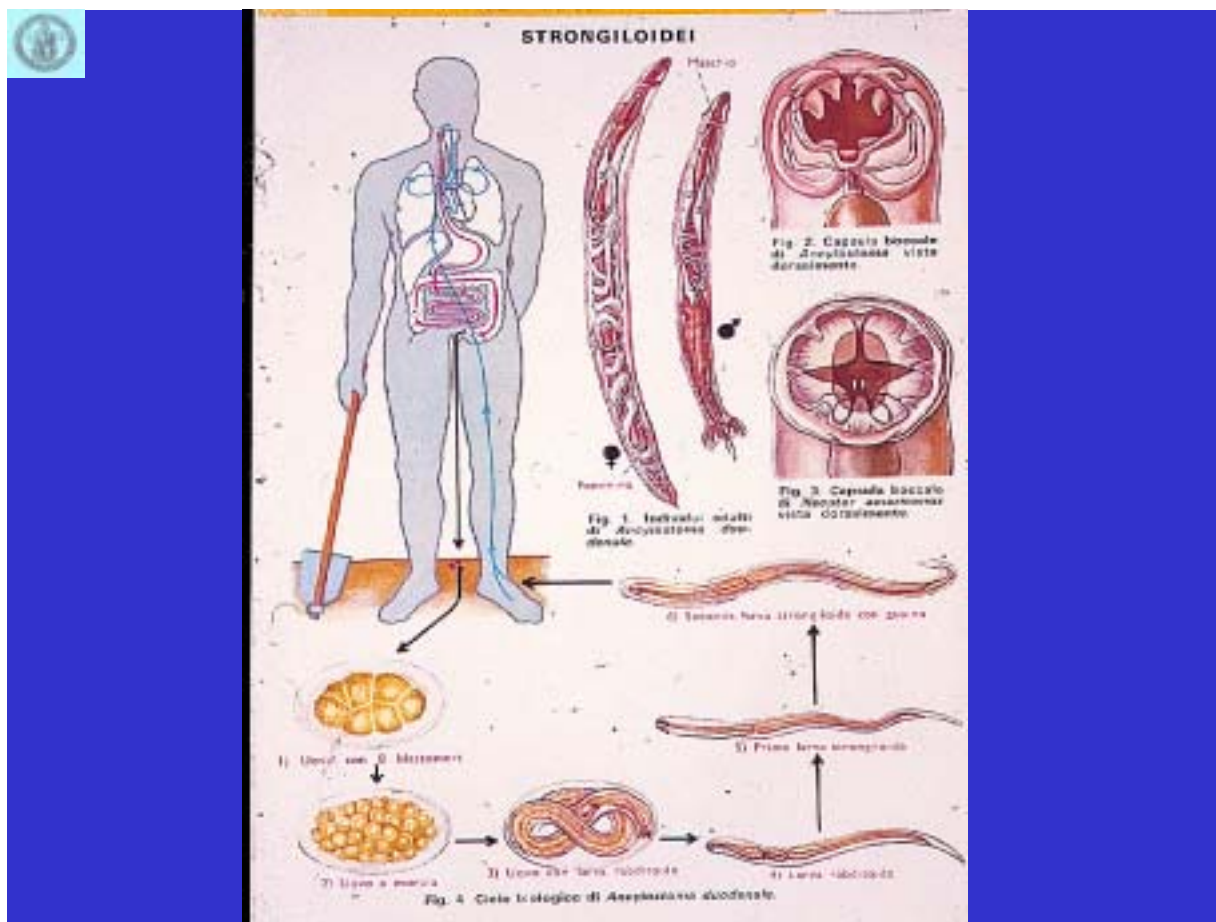


CCl_4 → BIOTRASFORMAZIONE
(Citocromo P_{450}) → TOSSICITA'



INDUZIONE ENZIMATICA

E' l'aumento della concentrazione di un enzima (o gruppo di enzimi) conseguente un aumento della velocita' di sintesi dell'enzima stesso in risposta ad un determinato stimolo che agisce sulla regolazione dell'espressione genica.





CARBON TETRACHLORIDE ***ROUTE OF EXPOSURE***

Inhalation

Ingestion

Dermal absorption



CARBON TETRACHLORIDE ***USES***

- Chemical industry
- Solvent
- Fumigant, pesticide
- Anti-fire agent
- Antielminthic drug

(IARC, 1979)



CARBON TETRACHLORIDE POISONING **SIGNS AND SYMPTOMS**

Acute phase

- eyes, nose and throat irritation
- dizziness and headache
- nausea and vomiting
- stupor, convulsion, coma (*death by CNS depression*)

Delayed phase

- vomiting, abdominal pain, diarrhea,
- severe hepatic injury
- severe kidney failure with oliguria (*death by anuria*)

(Klaassen, 1990)



CARBON TETRACHLORIDE POISONING **TREATMENT AND PROGNOSIS**

- fresh air and remove cloths (*inhalation*)
- induce vomiting (*in conscious patient*)
- gastric lavage and laxative
- haemodialysis
- glucose i.v.
- **NO ANALEPTIC DRUGS !!** (*arrhythmias*)
- recovery in 1-3 months in survivors



CARBON TETRACHLORIDE *TOXICOLOGICAL DATA*

- LC_{50} (mice): 9528 ppm
- LD_{50} (rat): 2.9 g/kg bw
- Lethal oral dose in humans: 1.5-100 ml
- TLV (ACGIH): 5 ppm (31 mg/m³)
- Non mutagenic, no chromosomal aberrations

(IARC, 1979)



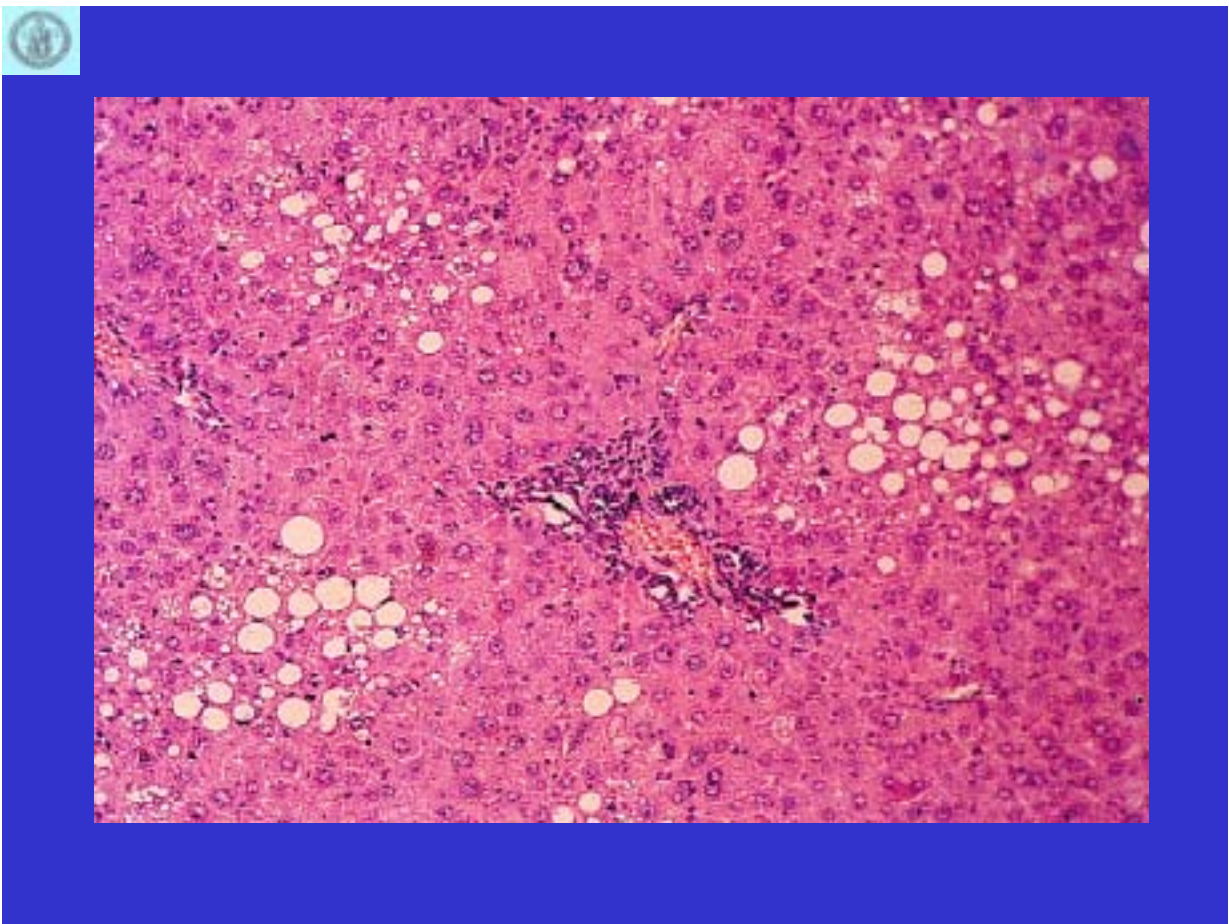
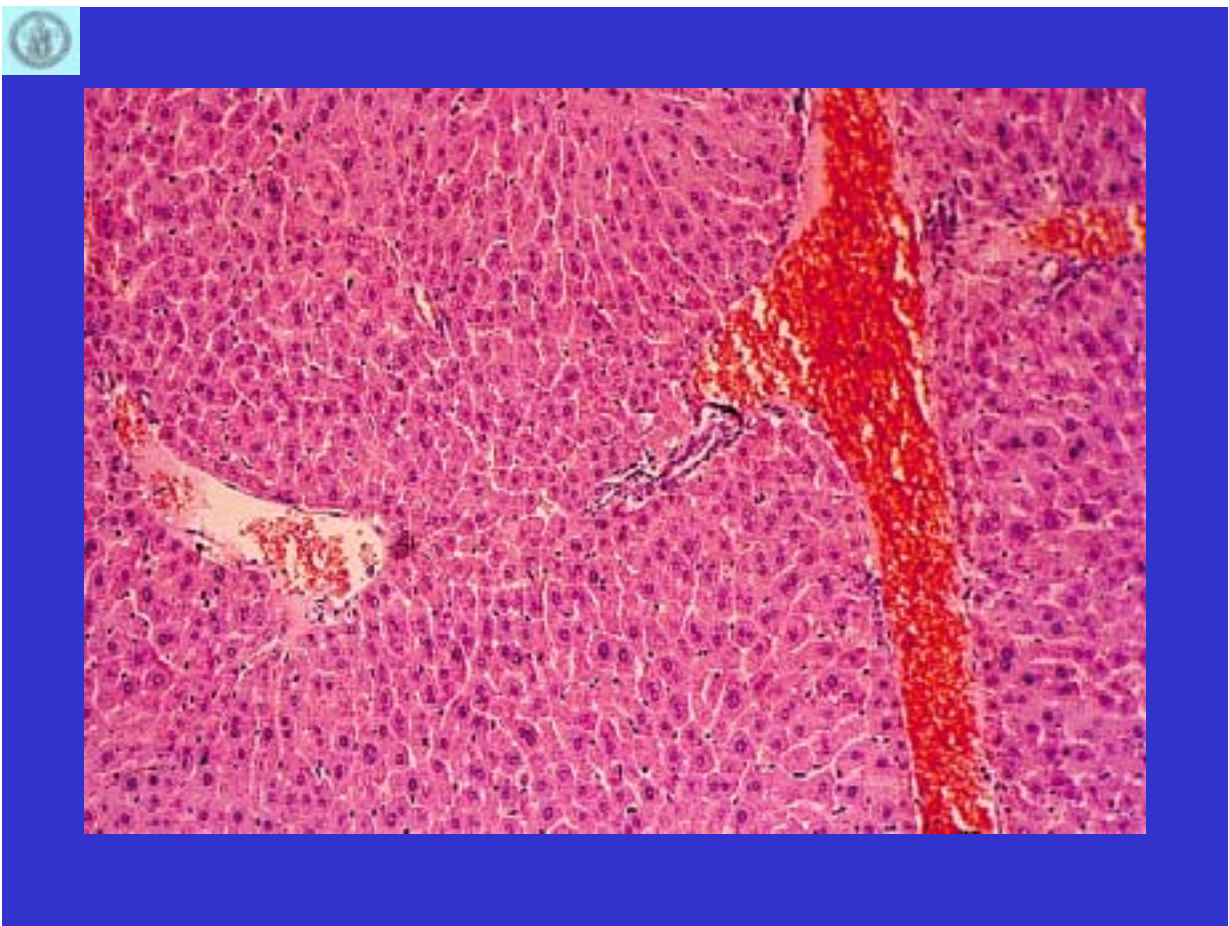
CARBON TETRACHLORIDE POISONING *HISTOPATHOLOGY*

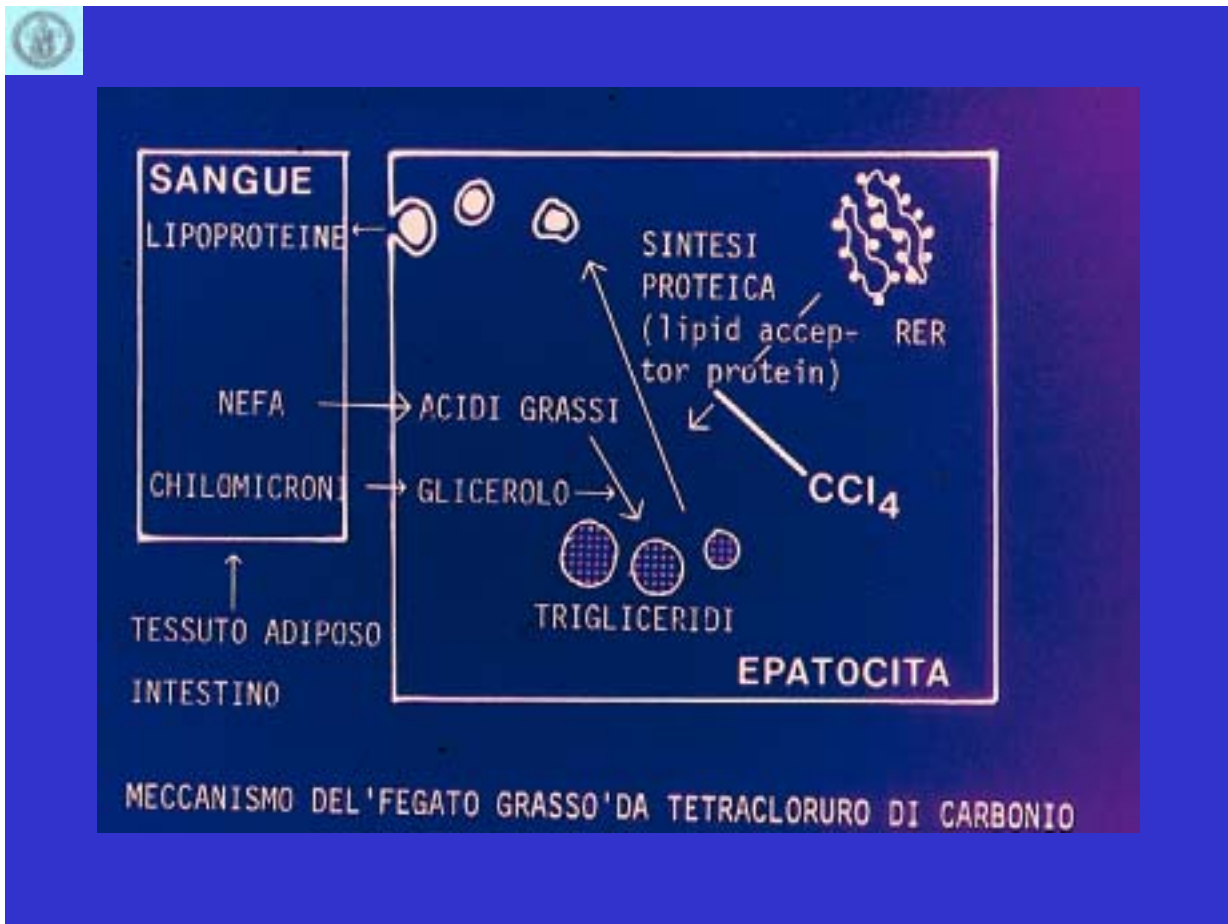
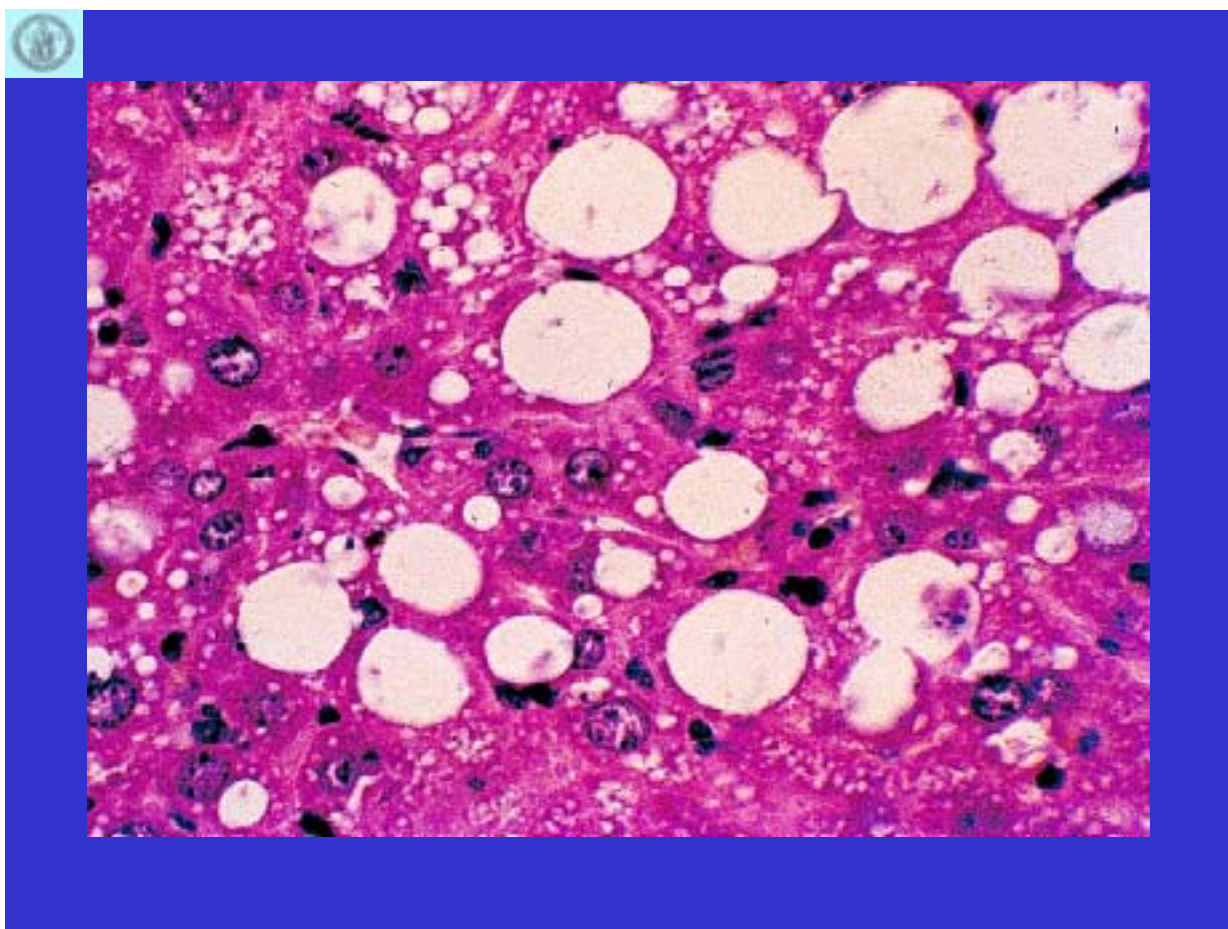
liver

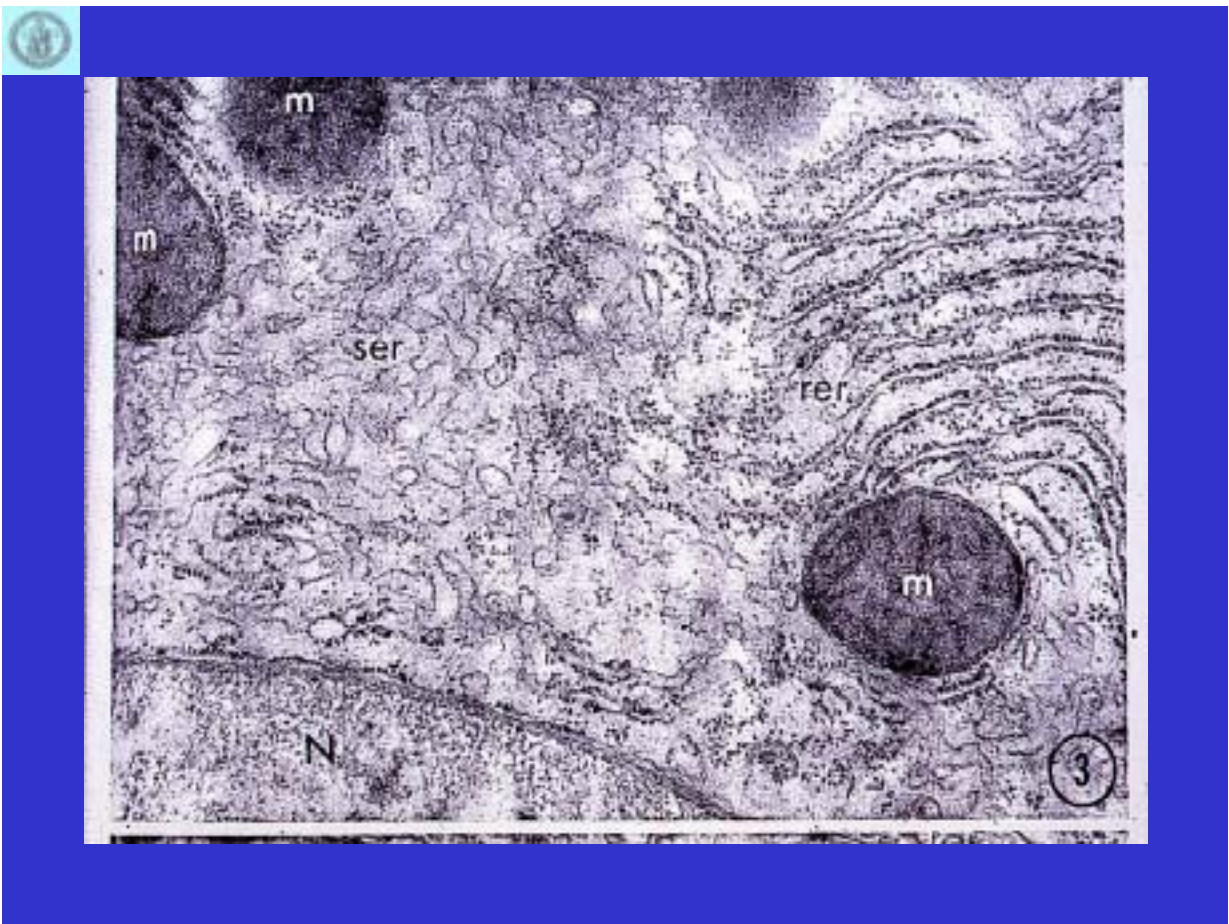
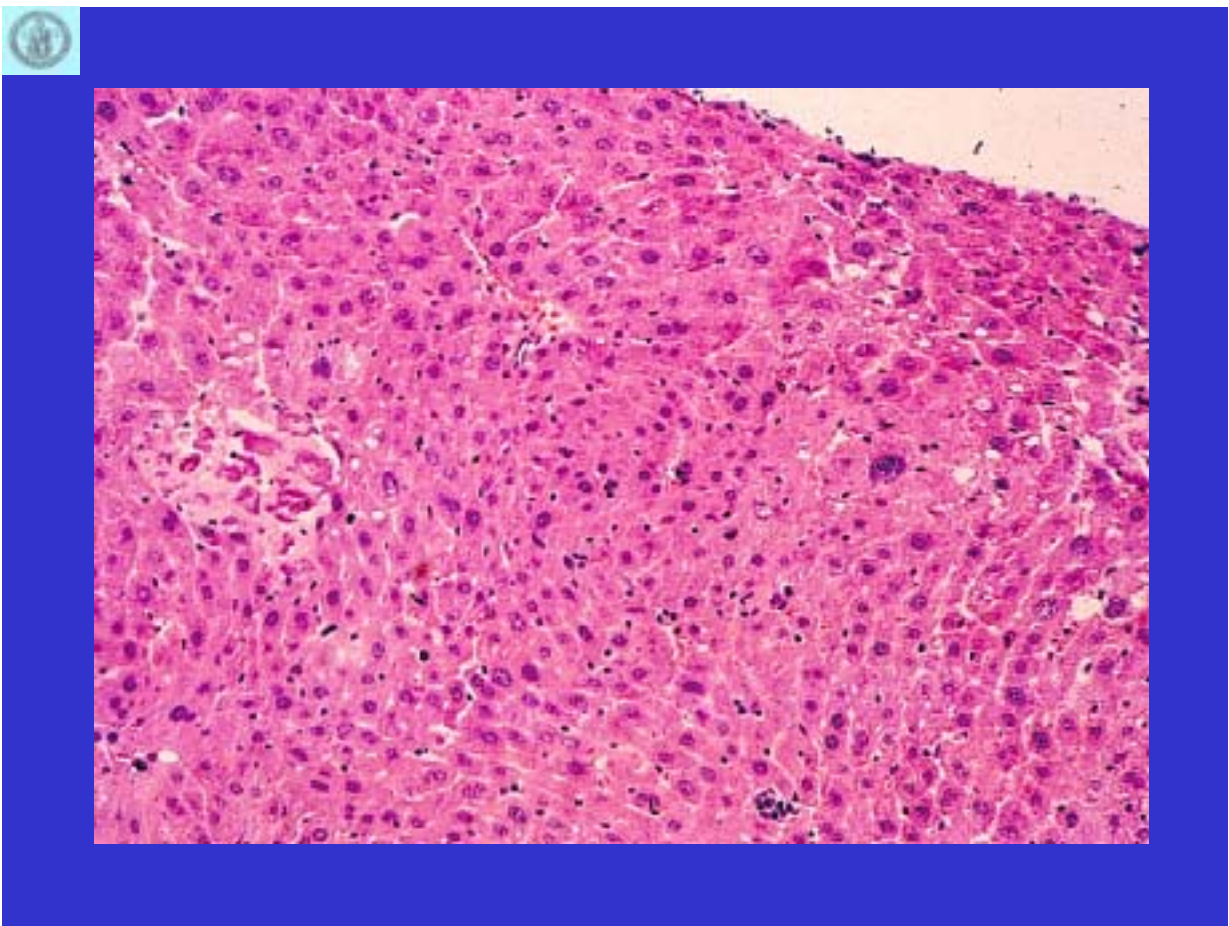
- steatosis
- centrolobular necrosis

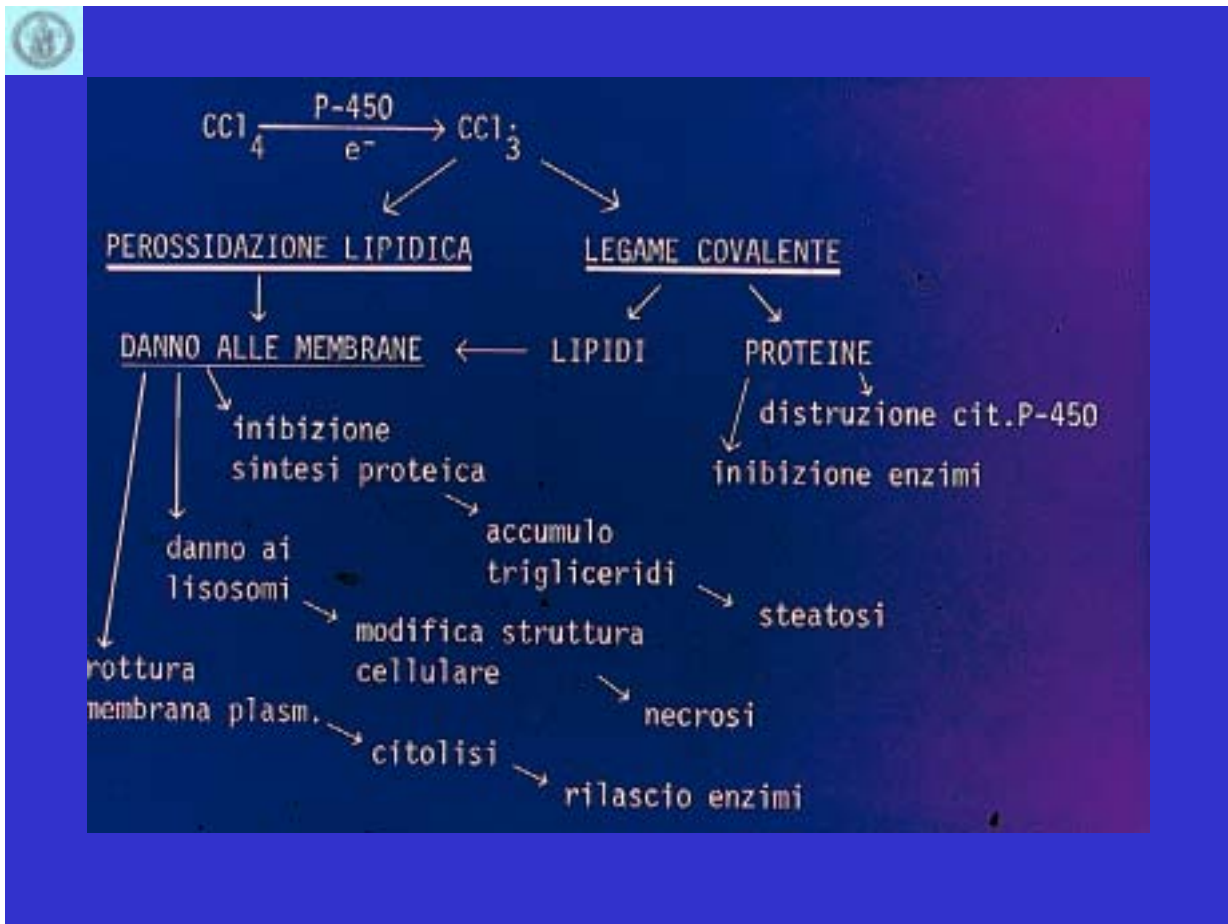
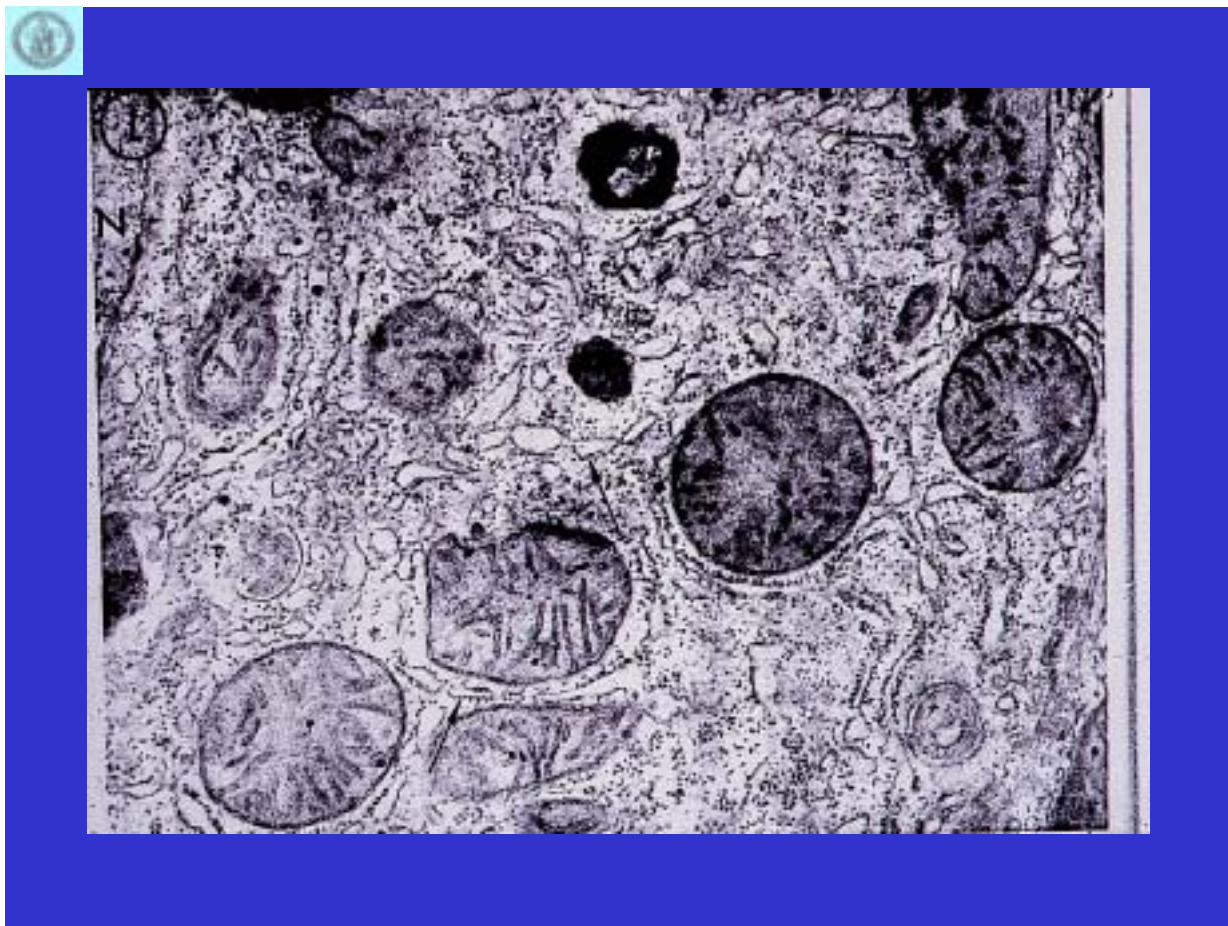
kidney

- tubular necrosis











CARBON TETRACHLORIDE

CARCINOGENICITY

in humans

- Three case-reports of liver tumours with cirrhosis.
- A mortality study on dry-cleaning workers exposed to several solvents suggested excess of leukemia and lung, liver and cervical tumours.

in animals

- Liver tumours in mice and rats by various routes

(IARC, 1979)



HCFC-123



Halothane



Critical dates in halothane hepatotoxicity story

- 1956 First use in clinical anaesthesia in U.K.
- 1958 First report of massive hepatic necrosis
- 1966 National Halothane Study (USA)
- 1966/69 Hepatitis in anaesthesiologists
- 1975 Mild hepatitis after multiple exposure in patients
- 1977/78 Higher risk of liver disease for anaesthesiologists

USUAL CLINICAL SYMPTOMS AND SIGNS OF "HALOTHANE HEPATITIS"

- headache, anorexia, malaise, fever, jaundice, lethargy and coma
- liver enlargement and tenderness
- gross increase in SGOT and SGPT activities, hyperbilirubinemia and low prothrombin activity
- fatty changes, cellular infiltration and centrilobular necrosis
- death in about 1 per 10,000 patients

(de Groot and Noll, 1985)

Predisposing factors to "halothane hepatitis"

- age of 40 years or more
- allergy
- obesity
- lengthy operations on obese patients
- major abdominal surgery
- female sex

(Carney and Van Dyke, 1972)

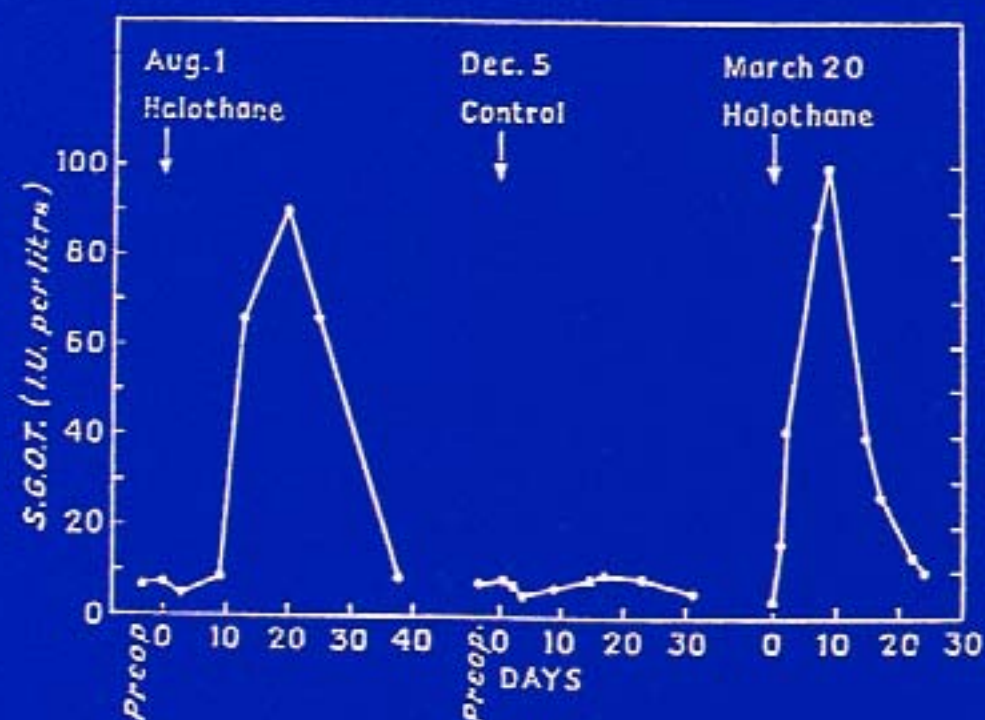


Fig. 2—Patient A: S.G.O.T. levels after exposure to halothane, then a control anaesthetic, and then halothane again.

PROPOSED MECHANISM FOR HALOTHANE-INDUCED IMMUNOALLERGIC HEPATITIS

1. Oxidative activation of halothane by a cytochrome P-450
2. Alkylation by a reactive metabolite of this cytochrome P-450
3. Recognition by the immune system of the alkylated cytochrome P-450 after its passage to the outer membrane of hepatocytes
4. Production of circulating antibodies to the hapten and the cytochrome P-450 carrier
5. Binding of these antibodies to the antigen and activation of hepatocytes
6. Destruction of these hepatocytes by immune cells

(Mansuy, 1987)

Several epidemiological studies suggest a higher risk of liver disease among anaesthesiologists.

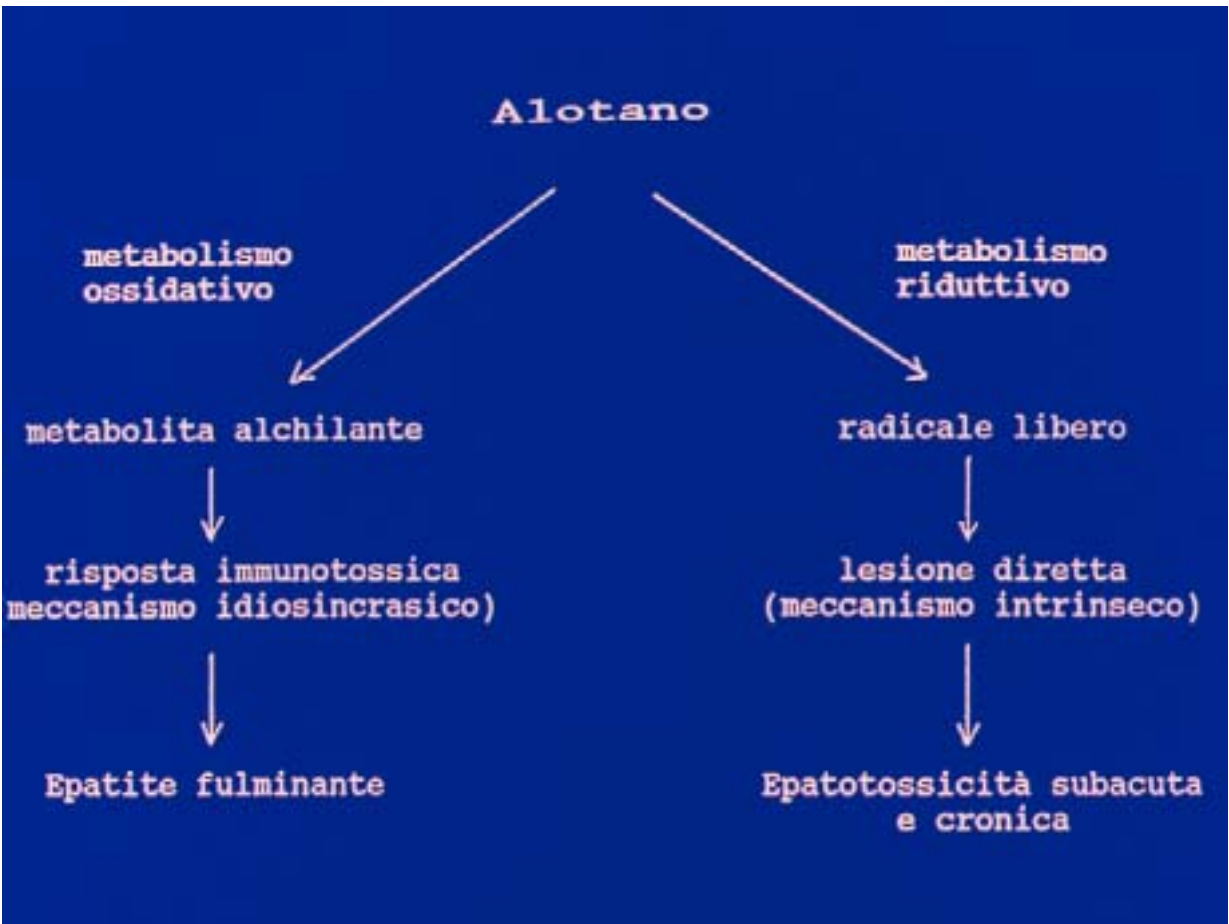
1. Cohen et al., 1974
2. Cohen et al., 1975
3. NIOSH, 1977
4. Spence and Knill-Jones, 1978

Proposed mechanisms of halothane hepatotoxicity:

1. IMMUNOALLERGIC

2. DIRECT

- a) covalent binding
- b) lipid peroxidation



Tab. xx.4 - Caratteristiche principali delle due maggiori categorie di tossici epatici.

Caratteristica	Tipo di epatotossico	
	"intrinseco"	"idiosincrasico"
Prevedibilita' del danno	presente	assente
Comparsa dei sintomi	rapida	variabile
Effetto alla riesposizione	simile	maggiore
Incidenza/prevalenza	alta	bassa
Rapporto dose-risposta	buono	scarso o nullo
Riproducibilita' nell'animale	buona	nulla o scarsa
Eosinofilia, rash, ecc.	assente	frequente
Attivazione metabolica	possibile	possibile

Tab. xx.5 - Classificazione clinica delle epatopatie professionali.

1. Epatopatia da induzione enzimatica
- con epatomegalia
- senza epatomegalia
2. Epatite acuta citotossica
- a meccanismo intrinseco
- a meccanismo idiosincrasico
3. Epatite cronica attiva (fibrosante)
- fibrosi
- cirrosi
4. Colestasi intraepatica
5. Epatite infettiva
6. Neoplasie epatiche

FATTORI DI CONFONDIMENTO NELLA DIAGNOSI DI EPATOPATIA PROFESSIONALE

- consumo di alcol
- uso di farmaci (estroprogestinici, paracetamolo, barbiturici, antibiotici, ecc.)
- epatopatie preesistenti (infettive, congenite, tossiche)

Classificazione delle emopatie professionali in base all'agente tossico:

- A. Agenti fisici (*radiazioni ionizzanti*)
- B. Agenti chimici (*es. Pb, benzene, sost. metemoglobinizzanti*)
- C. Agenti biologici (*es. anchilostomiasi*)

Classificazione delle emopatie tossiche in base alla sede d'azione:

- A. sull'organo emopoietico (*es. benzene*)
- B. sul sangue circolante (*es. CO, sost. emolizzanti/metemoglobinizzanti*)
- C. su entrambi (*es. Pb*)
- D. Sull'emostasi/coagulazione (*es. CS₂*)

Emopatie da benzene

- Anemia aplastica
- Sindromi mielodisplastiche (*anemia, leucopenia, piastrinopenia*)
- Leucemia mieloide acuta
- Eritroleucemie

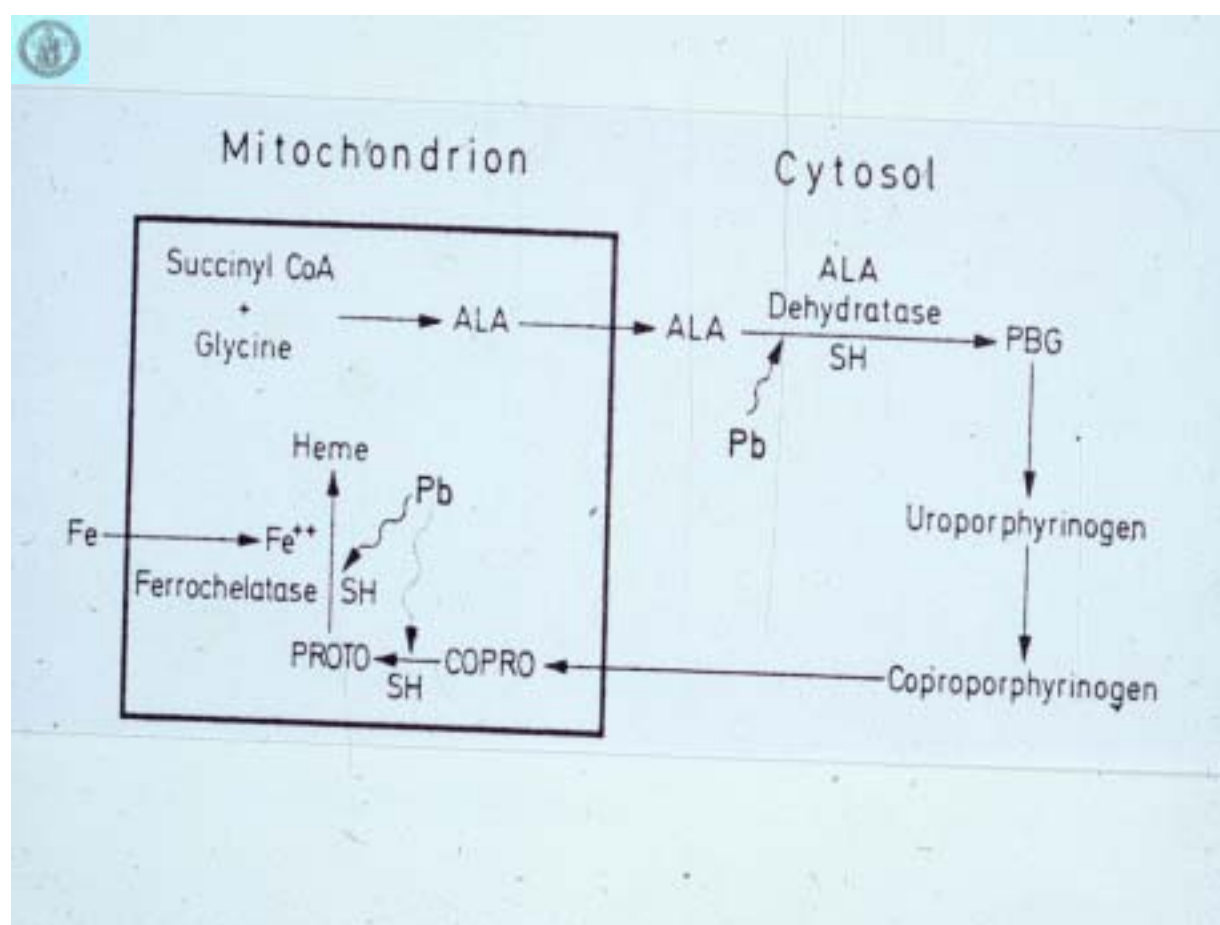
Anemie emolitiche

- A. Da agenti fisici (*calore, sforzo*)
- B. Da agenti chimici (*idrogeno fosforato/arsenicale*)
- C. Da agenti tossinfettivi (*infezioni, malaria*)
- D. Da difetti enzimatici (*deficit G6PD + naftaline/fenilidraz.*)

Metemoglobinemie



- A. Azione diretta (nitriti, nitrati, nitroderivati, alfa-naftilamina, ecc.)
- B. Azione indiretta (anilina, di/tri-nitroderivati del benzene)
- C. Congenite
 - Emoglobinopatie
 - Deficienza di enzimi riducenti (G6PD)
 - Sintesi endogena di sostanze MeHbzzanti



TUMORI EMATOLOGICI PROFESSIONALI

Radiazioni ionizzanti:

Prime segnalazioni: anni '30-'50 nei radiologi.

Aumento dose-dipendente delle leucemie mieloidi, acuta e cronica, in esposti (radiologi e sopravvissuti a esplosioni atomiche)

Rischio: 1-2 casi/milione/anno/centigray (400 cGy sono letali)

Periodo di latenza: 8-18 anni

Benzene:

Prima segnalazione: nel 1928 descritto il primo caso di leucemia acuta non linfoblastica.

A concentrazioni di 100-200 ppm induce pancitopenia e anemia aplastica in 10-20% dei soggetti. La leucemia è spesso preceduta da citopenia o anemia.

Non è sicuro che il benzene possa causare forme croniche, linfatiche o mieloidi.

Meccanismo: attivazione metabolica a metaboliti emotossici da parte del CYP2E1.

Ossido di etilene

Alcuni studi segnalano un aumento di incidenza di leucemie in professionalmente esposti durante la produzione e in operazioni di sterilizzazione. Gruppo 1-IARC.