



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea**  
**SCIENZE BIOLOGICHE**

Arsenico: un killer silenzioso  
Arsenic: a silent killer

Tesi di Laurea di:  
DI GAETANO GLORIA

Docente Referente  
Dott.ssa Benedetti Maura

Sessione estiva  
Anno accademico 2019/2020

# RIASSUNTO

I metalli in traccia sono elementi comunemente diffusi in ambiente, anche in aree non soggette a contaminazione chimica, e sono in grado di causare dei gravi danni alla popolazione.

In questo studio, attraverso i dati raccolti sulle mummie del deserto di Atacama (Ande) valuteremo gli effetti che queste sostanze causano in seguito ad esposizioni a lungo termine e del possibile adattamento «bioculturale» delle popolazioni.

A causa delle elevate concentrazioni di arsenico nel cibo e nell'acqua, le popolazioni del sito di Camarones sono notevolmente colpite da questi effetti.

Sembra tuttavia che in alcune popolazioni, residenti in queste aree, ad oggi si sia evoluto un meccanismo di selezione positivo in seguito ad una mutazione del gene *AS3MT*, che determina un processo di metilazione più efficiente dell'arsenico.

# INTRODUZIONE

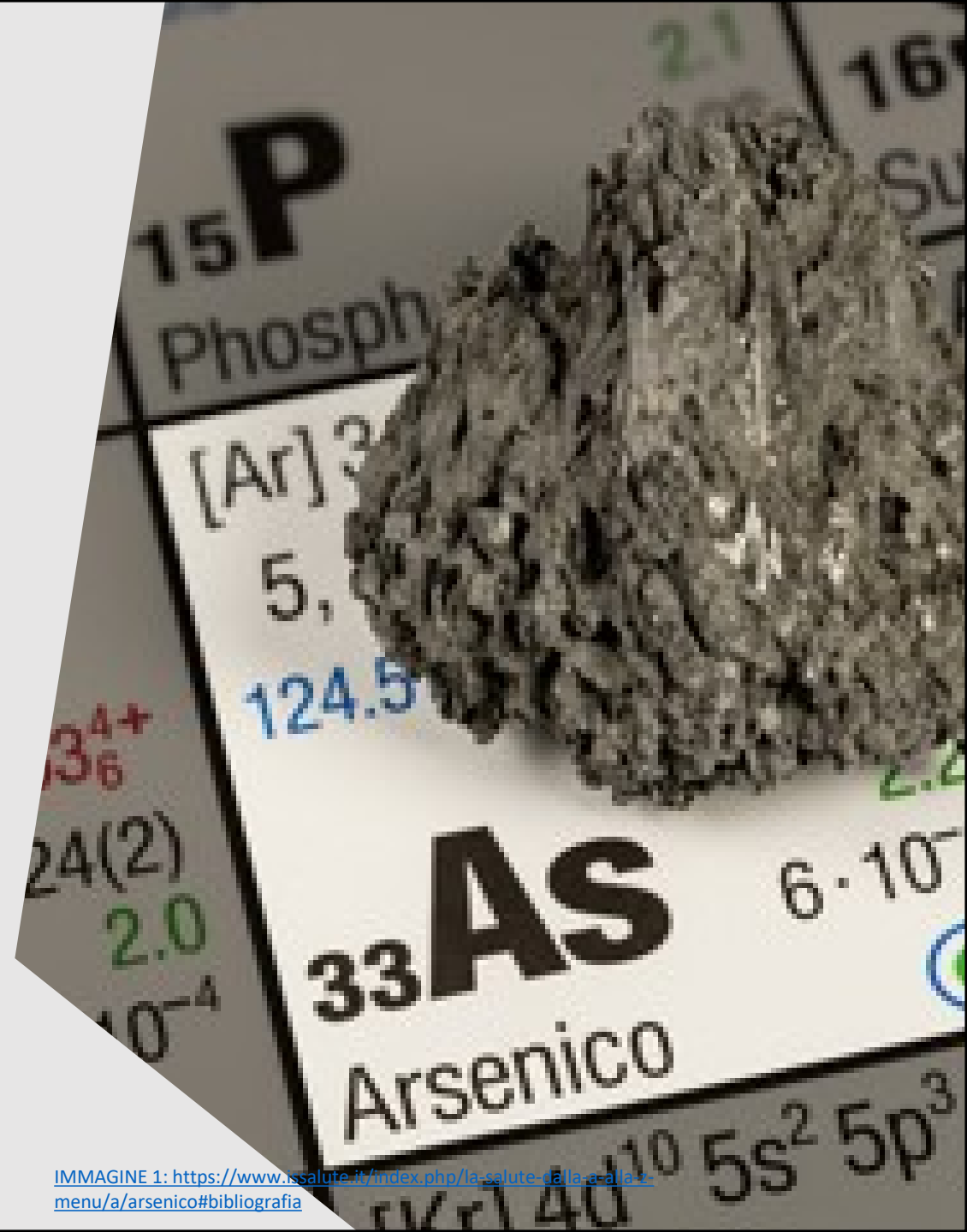
-Arsenico: componente naturale della superficie della terra

**Minaccia globale presente in molte falde acquifere**

-Molte terre aride presentano un accumulo di sostanze tossiche

-Le popolazioni che insediano questi ambienti sono a rischio di contaminazione essendo questi elementi insapore, inodore e non rilevabili ad occhio nudo

-Quante persone nell'antichità venivano contaminate da questo killer silenzioso?





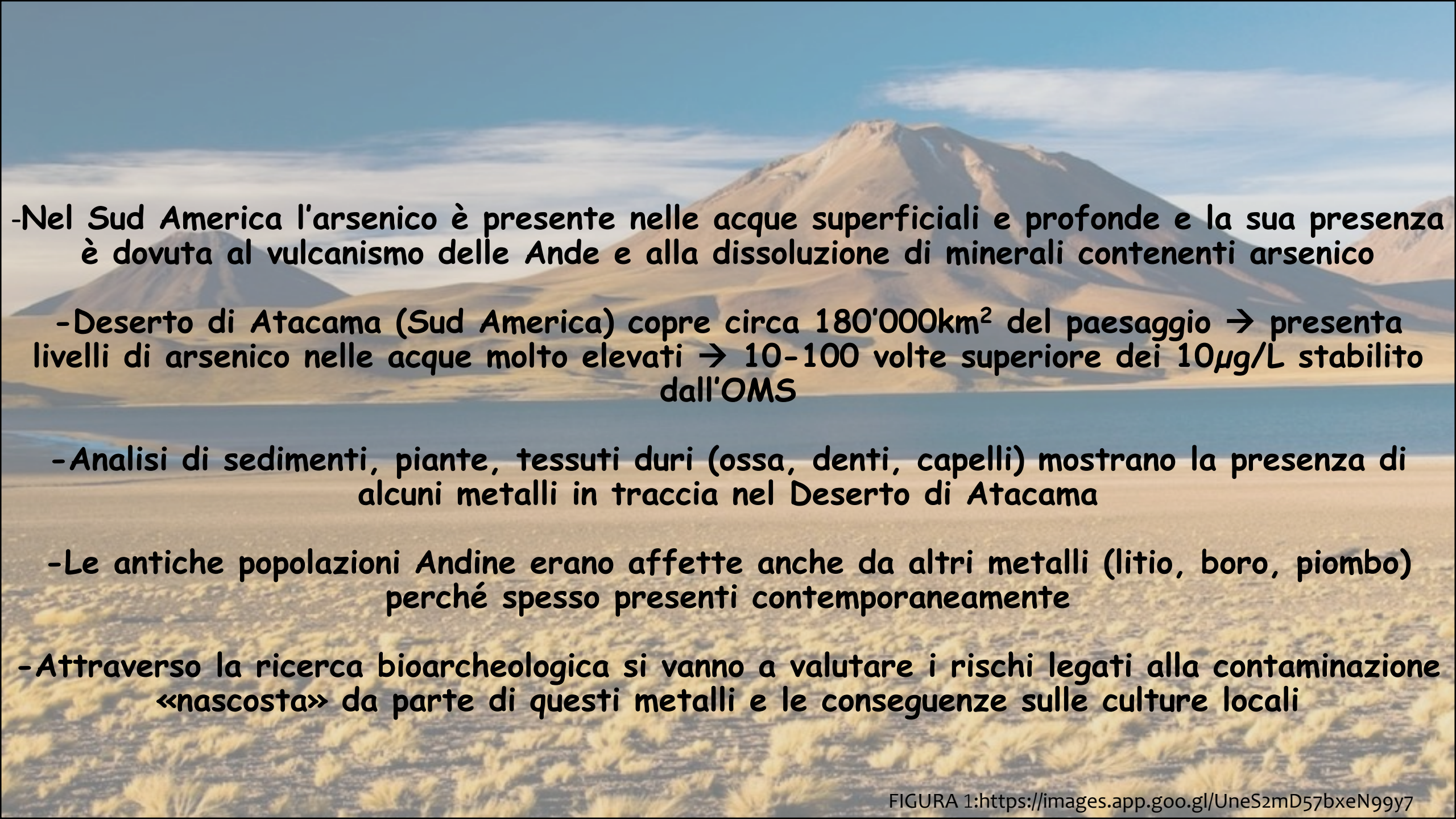
- 
- Nel Sud America l'arsenico è presente nelle acque superficiali e profonde e la sua presenza è dovuta al vulcanismo delle Ande e alla dissoluzione di minerali contenenti arsenico
  - Deserto di Atacama (Sud America) copre circa 180'000km<sup>2</sup> del paesaggio → presenta livelli di arsenico nelle acque molto elevati → 10-100 volte superiore dei 10µg/L stabilito dall'OMS
  - Analisi di sedimenti, piante, tessuti duri (ossa, denti, capelli) mostrano la presenza di alcuni metalli in traccia nel Deserto di Atacama
  - Le antiche popolazioni Andine erano affette anche da altri metalli (litio, boro, piombo) perché spesso presenti contemporaneamente
  - Attraverso la ricerca bioarcheologica si vanno a valutare i rischi legati alla contaminazione «nascosta» da parte di questi metalli e le conseguenze sulle culture locali





FIGURA 3:  
<https://images.app.goo.gl/BcwhKYQf1N6PGcD47>

-La tossicità dell'arsenico si esplica attraverso variazioni di attività di molti enzimi coinvolti nelle vie energetiche cellulari e nella replicazione e riparazione del DNA

-L'avvelenamento da arsenico comporta dei cambiamenti dermatologici → iperpigmentazione, lesioni cutanee, tumori, sviluppo lento nei bambini, disturbi psicosomatici, cardiopatia

-L'avvelenamento è stato riscontrato nei resti bio-archeologici → alcuni elementi chimici vengono eliminati attraverso l'urina dopo essere stati ingeriti, una quantità viene immagazzinata nei tessuti molli e duri del corpo

FIGURA 2:  
<https://images.app.goo.gl/4E4hy12uGWDvVnbu8>

-Donne incinte che vivono in ambienti ricchi di arsenico soffrono di alti tassi di aborti spontanei e nascite premature in quanto questo metallo è in grado di attraversare la placenta

-Mummie affette da polidattilia (mani e piedi) dovute alla contaminazione polimetallica



FIGURA 4:  
<https://images.app.goo.gl/nYDTeCKm4t24KCET6>

-L'avvelenamento cronico da arsenico ha un impatto sulla vita quotidiana e sulle interazioni sociali

-Persone affette → connotazione negativa

-Donne colpite → considerate più vulnerabili e spesso venivano schernite e allontanate dalla comunità



-Persone affette nel sito di Camarones ricevevano una corretta sepoltura



FIGURA 5: [www.culturaindigena.it](http://www.culturaindigena.it)

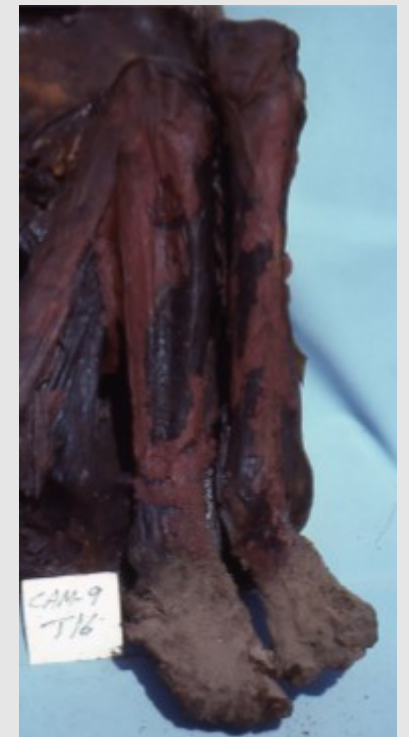


FIGURA 6: [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)

# MATERIALI E METODI:

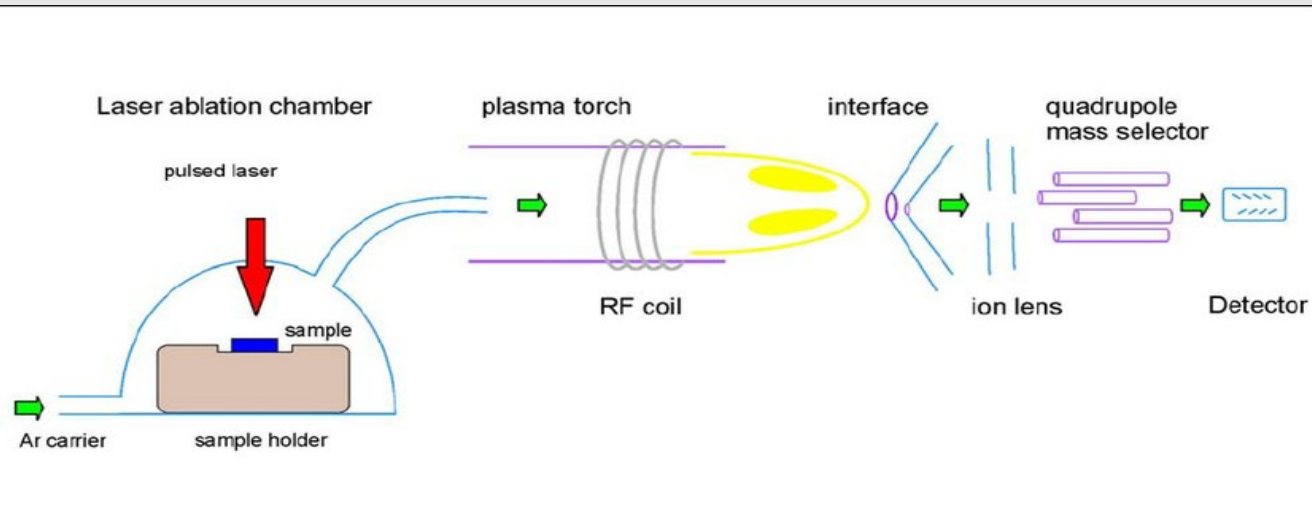
-Grazie alle tecniche moderne di analisi è stato possibile studiare la concentrazione di sostanze chimiche tossiche sulle popolazioni antiche

LA-ICP-MS → Laser Ablation- Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry



-minima distruzione del campione  
-risoluzioni da 5 a 150 micron

Determinazione degli elementi costituenti della maggior parte dei materiali solidi



- 1) Fascio laser diretto sul campione
- 2) Materiale ottenuto raccolto in flusso di gas di trasporto
- 3) Trasportato nel ICP-MS per la ionizzazione
- 4) Ioni separati in base al rapporto massa/carica  
→ analisi spettrometro di massa



- Le popolazioni si spostavano dal deserto alla costa e agli altopiani, vicini alle fonti di acqua fluviali, che utilizzavano giornalmente → trappola letale



FIGURA 8: wileyonlinelibrary.com

- I fiumi, presentano un'elevata concentrazione di arsenico dovuta all'intensa attività vulcanica

-L'arsenico viene accumulato negli organismi attraverso l'alimentazione → acque superficiali, pesci, vegetali

-La popolazione del deserto di Atacama risale a circa 10'000/13'000 anni fa. L'acqua era molto abbondante → aumento della disponibilità di cibo

-Nel Cile settentrionale (l'antica Chinchorro) una popolazione di cacciatori-agricoltori ingerì alti livelli di arsenico → acqua contaminata e radici Cattail (rizoma)



FIGURA 9:  
<https://images.app.goo.gl/xEtRRMVq94nsVJL86>





FIGURA 10: <https://images.app.goo.gl/UYxiedZ8k2HiyTcJA>

-Sviluppo nuove tecnologie per uso efficiente di acqua → consumo più elevato di acqua → ingresso superiore di arsenico

-Come parte del loro controllo politico ed economico, gli Incas trasferivano colonie di persone (Mitimaes) in territori appena conquistati.  
Ambienti più ostili → effetti sulla loro salute

-Ad esempio, le mummie di Camarones presentano lesioni cutanee ed elevata concentrazione di arsenico negli organi interni (intestino e fegato) → inconsapevolmente esposti ad un ambiente ricco di arsenico che ha determinato lesioni agli organi interni



FIGURA 11: wileyonlinelibrary.com

-Sviluppo di meccanismi fisiologici per eliminare l'arsenico ingerito

-Le popolazioni moderne esposte ad alti livelli di arsenico per lunghi periodi portano il marcatore del gene dell'arsenico (III) metiltransferasi (AS3MT)

-**AS3MT** → protezione genetica contro la tossicità dell'arsenico → meccanismo di selezione positivo



Trasforma i composti inorganici in MMA E DMA

- 4 SNP → metilazione più efficiente



SNP 14458 → alle T livelli < MMA



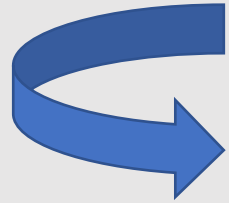
SNP 12390 - 14215- 35991. Alleli C, T e A livelli > DMA

-Aplotipo noto C- T- A → popolazioni in presenza di arsenico

# Caso studio:

-Confronto → frequenze delle varianti geniche associate alla matabolizzazione efficiente/aplotipo protettivo del gene *AS3MT*

Campione → saliva



3 campioni da 3 località Cilene → Camarones, Azapa e San Juan de la Costa



4° campione → popolazione indigena Huilliche → valutare la variabilità delle varianti protettive in popolazioni con forte componente di nativi Americani

-Genotipi per SNP → ottenuti con PCR - RFLP

-Sequenziamento prodotti PCR dei 4 SNP **×** i 4 individui di ogni popolazione



-Confronto frequenze genotipo osservate e attese → popolazione in equilibrio di Hardy-Weinberg

-Confronto Camarones e Azapa → marker non presentavano differenze significative

-Genotipi con variante protettive negli SNP 12390, 14215 e 35991 → frequenze più elevate nelle popolazioni di Camarones

-Confronto campione Camarones e Huilliche → differenze per i 4 marcatori genetici associate a metilazione più efficiente

- CCTA → aplotipo più frequente a Camarones e Azapa → Camarones (68%) - Azapa (48%) - Huilliche (8%)



**SELEZIONE NATURALE POSITIVA**

TABLE 4 Haplotype frequencies of gene AS3MT

Haplotypes N	Camarones Local 36	Azapa Local 31	Huilliche of SJC 45
<u>CTTA</u>	0.68	0.48	0.08
<u>CTTG</u>	-	0.01	-
<u>GTTA</u>	0.01	-	-
<u>GTTG</u>	0.04	-	-
<u>GCTA</u>	0.01	0.16	0.30
<u>GCTG</u>	0.23	0.26	0.46
<u>GCCA</u>	0.01	0.03	-
<u>GCCG</u>	-	0.05	0.14

Within the haplotypes the protective alleles are shown underlined.

# CONCLUSIONI:

- Il problema dell'arsenico non è da sottovalutare in quanto elevate concentrazioni naturali sono presenti in molte aree della terra
- Le attuali tecnologie di chimica analitica consentono di raccogliere dati approfonditi sulla storia biografica di ciascun individuo e a sua volta, dare informazioni sul benessere delle popolazioni antiche
- I dati sulle concentrazioni di metalli in traccia e sui marcatori genetici protettivi possono essere utili per esplorare la mobilità della popolazione, le interazioni sociali, e l'adattamento biologico delle popolazioni antiche che vivevano in ambienti contaminati
- Popolazioni storicamente esposte all'arsenico possiedono una frequenza più alta dell'aplotipo protettivo del gene *AS3MT (CCTA)*
- Ancora oggi, esiste un problema di contaminazione «naturale» nelle stesse aree in cui vivevano gli antichi Andini
- Necessità di apprendere più informazioni possibili dalle popolazioni antiche anche grazie alle tendenze evolutive per poter valutare gli effetti, anche in futuro, dei metalli in traccia naturalmente presenti sia sulla salute ambientale che delle popolazioni.

# BIBLIOGRAFIA

Arriaza B, Amarasiriwardena D, Standen V, Yáñez J, Van Hoesen J, Figueroa L. Living in poisoning environments: Invisible risks and human adaptation. *Evol Anthropol.* 2018;27:188–196. <https://doi.org/10.1002/evan.21720>

Giovatore G. LA-ICP-MS.  
[www.gemmologiaolistica.it](http://www.gemmologiaolistica.it)

Apata M, Arriaza B, Llop E, Moraga M. Human adaptation to arsenic in Andean populations of the Atacama Desert. *Am J Phys Anthropol.* 2017;163:192–199. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23193>

[IMMAGINE 1: https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/a/arsenico#bibliografia](https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/a/arsenico#bibliografia)

FIGURA 1 :  
<https://images.app.goo.gl/UneS2mD57bxen99y7>

FIGURA 2:  
<https://images.app.goo.gl/4E4hy12uGWDvVnbu8>

FIGURA 3:  
<https://images.app.goo.gl/BcwhKYQf1N6PGcD47>

FIGURA 4:  
<https://images.app.goo.gl/nYDTecKm4t24KCET6>

FIGURA 5: [www.culturaindigena.it](http://www.culturaindigena.it)

FIGURA 6: [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)

FIGURA 7: <https://images.app.goo.gl/2SLQCVBYJrfLqYcg9>  
FIGURA 8: [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)

FIGURA 9:  
<https://images.app.goo.gl/xEtRRMVq94nsVJL86>

FIGURA 10: <https://images.app.goo.gl/UYxiedZ8k2Hi>

FIGURA 11: [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)

TABELLA 1: Schlebusch et al.  
(2013)

FIGURA 12:  
<https://images.app.goo.gl/PNvS6qLFUhUSDi2b7>