

ELEMENTI DI TOSSICOLOGIA GENERALE DEI FITOFARMACI

GIAN LUIGI BIAGI

Istituto di Farmacologia - Università di Bologna

Introduzione

I fitofarmaci sono agenti chimici immessi nell'ambiente per uccidere o almeno danneggiare le forme di vita, che sono dannose per l'agricoltura, o capaci di trasmettere malattie all'uomo e agli animali domestici, o comunque di essere nocive per l'ambiente (Klaassen *et al.*, 1986; Marquis, 1986). Con il termine di fitofarmaci in Italia e in alcuni altri paesi europei si intendono soltanto quegli antiparassitari che vengono impiegati in agricoltura per ottenere più elevate produzioni o per preservarne i prodotti durante le fasi dell'immagazzinamento e della distribuzione commerciale (Foschi *et al.*, 1985).

Nei paesi sottosviluppati l'uso dei fitofarmaci in agricoltura è in grado di contribuire in modo tangibile alla lotta contro la fame. Malattie come malaria, filariosi, febbre gialla, encefalite virale, tifo petecchiale, peste bubbonica, febbre delle Montagne Rocciose ecc. sono tutte trasmesse all'uomo da vettori animali, che possono essere controllati con gli antiparassitari (Tab. 1). Nella tabella 2 vengono riportati i più importanti vantaggi derivanti dall'impiego di queste sostanze (Marquis, 1986).

Tabella 1 — Malattie trasmesse all'uomo da animali controllabili con gli antiparassitari.

Malattia	Vettore	Agente eziologico
Malaria	zanzara (gen. <i>Anopheles</i>)	<i>Plasmodium</i> spp.
Filariosi	zanzara (gen. <i>Culex</i> , <i>Aedes</i> e <i>Anopheles</i>)	<i>Wuchereria bancrofti</i>
Febbre gialla	zanzara (<i>Aedes aegypti</i>)	Arbovirus del gruppo B
Encefalite virale	zanzara	Arbovirus
Tifo petecchiale	pidocchio	<i>R. prowazeki</i>
Peste bubbonica	pulce e ratto	<i>Pasteurella pestis</i> (Yersinia)
Febbre delle Montagne Rocciose	zecca	<i>R. rickettsii</i>

A seconda degli organismi indesiderabili, che ne sono il bersaglio, i fitofarmaci vengono distinti in erbicidi, fungicidi, rodenticidi, insetticidi ecc. (Tab. 3).

Tabella 2 — Alcuni vantaggi dell'impiego dei fitofarmaci.

1. Aumentata produttività agricola
2. Conservazione delle risorse e dei prodotti forestali
3. Protezione del legname da costruzione nei confronti, ad es., di termiti, tarli, funghi
4. Prevenzione delle malattie trasmesse da vettori animali
5. Protezione di aree intensamente popolate nei confronti, ad es., di mosche, zanzare e ratti
6. Disinfestazione di ospedali, scuole e caserme
7. Protezione della salute del bestiame e del pollame
8. Protezione della catena alimentare
9. Difesa delle sorgenti di acqua potabile
10. Protezione di aree ricreative (giardini pubblici, impianti sportivi, ecc.)

Il consumo totale di antiparassitari non è di facile valutazione. La tabella 4 riporta i 26 fitofarmaci organici più largamente impiegati in agricoltura nel 1980 in California. A questi vanno aggiunti almeno altri 74 fitofarmaci organici, oltre ai prodotti inorganici e ai derivati del petrolio che pure hanno diffuso impiego. L'impiego totale dei fitofarmaci in agricoltura ammontava infatti nel 1980 in California a circa 60 milioni di kg (Crosby, 1982). Per ottenere il consumo totale, a questi vanno infine aggiunti gli antiparassitari usati per altri scopi che non siano quelli agricoli. Nel 1982 nell'insieme degli Stati Uniti per le 13 più importanti coltivazioni agricole si sono usati circa 250 milioni di kg di fitofarmaci (Marquis, 1986).

Si può ritenere che i fitofarmaci ammontino al 60-70% del totale degli antiparassitari, anche se vi sono ampie differenze nelle varie situazioni. Per esempio nella contea di Salt Lake, Utah, i fitofarmaci nel 1969 ammontavano a poco meno della metà del totale (44.663 kg/91.193 kg).

Tabella 3 — Organismi vegetali e animali bersagli dei più comuni fitofarmaci.

Organismi vegetali	Fitofarmaco	Organismi animali	Fitofarmaco
Malerbe	erbicida	roditori	rodenticida
Funghi	fungicida	nematodi	nematodocida
Foglie	defogliante	insetti	insetticida
Batteri	battericida	acari	acaricida
Alghe	alghicida	molluschi	molluschicida

Al contrario in Arizona solo lo 0,6% del totale veniva usato in ambiente domestico. Uno studio condotto in South Carolina ha dimostrato che l'89% delle famiglie usava antiparassitari e che il 90% di queste li conservava in casa senza alcuna particolare cautela (Klaassen *et al.*, 1986).

Per quanto concerne l'Italia i dati della tabella 5 si riferiscono al 1983 o al 1985, a seconda che si tratti di indagini dell'Istat o dell'Assochimica rispettivamente. Dovrebbe trattarsi di dati globali includenti sia i consumi agricoli che quelli di ogni altra natura (Foschi e Zocca, 1987).

Tabella 4 — Fitofarmaci organici usati in California nel 1980.

N.	Nome	Uso (1)	Milioni di kg
1.	dichloropropene	N	6,444
2.	methyl bromide	N, I	2,753
3.	maneb	F	994
4.	nitrofen	E	954
5.	propargite	A	816
6.	methomyl	I, A	771
7.	molinate	E	743
8.	chloropicrin	N, F	655
9.	CDEC	E	611
10.	DCPA	E	592
11.	methamidophos	I	458
12.	ethylene dibromide	N, I	402
13.	carbaryl	I	377
14.	chlorthalomil	F	369
15.	parathion	I	366
16.	captan	F	359
17.	DEF	D	338
18.	dinoseb	E	320
19.	dimethoate	I	302
20.	dichloran	F	301
21.	acephate	I	277
22.	MCPA dimethylamine salt	E	272
23.	oxydemeton methyl	I	256
24.	2,4-D dimethylamine salt	E	241
25.	dicofol	A	237
26.	pentachlorophenol	E, F, I	227
Totale			20,435

(1) N = nematocida; I = insetticida; F = fungicida; E = erbicida; A = acaricida; D = defogliante.

Tabella 5 — Consumo di fitofarmaci in Italia, nel 1983 secondo l'Istat, e nel 1985 secondo l'Assochimica.

Prodotto	Millioni di kg	
	1983	1985
Fungicidi	74,5	60,0
Insetticidi e acaricidi	35,0	35,0
Erbicidi	26,0	30,5
Nematocidi ed altri	20,3	15,0
Totale	155,8	140,5

Il presupposto per l'impiego sicuro dei fitofarmaci è la loro selettività d'azione. Infatti la loro azione tossica dovrebbe essere altamente specifica per i cosiddetti agenti indesiderabili e priva di effetti negativi per gli organismi desiderabili. Questi ultimi sono rappresentati dall'uomo, ma anche dagli animali domestici o comunque utili all'ambiente, nonché da tutte le specie vegetali di interesse agricolo o ambientale. In realtà la maggior parte degli agenti

chimici usati come antiparassitari non sono altamente selettivi e pertanto sono tossici per molte specie animali desiderabili. D'altra parte sono oggi disponibili per questo uso circa 1.000 diversi agenti chimici ed il loro consumo è di tali dimensioni da rendere relativamente frequente la possibilità di una intossicazione. Si calcola infatti che negli Stati Uniti si abbiano ogni anno circa 150 decessi per intossicazioni acute e circa 15.000 casi di avvelenamenti più o meno gravi da antiparassitari (Klaassen *et al.*, 1986).

È interessante un confronto con gli avvelenamenti da agenti chimici in genere. Oggi si conoscono circa 3.000.000 di composti chimici. Ne sono presenti sul mercato circa 100.000 disponibili in circa 300.000 diversi prodotti commerciali. Pertanto dei 100.000 composti chimici presenti sul mercato solo circa 1000 vengono impiegati come fitofarmaci. Negli Stati Uniti ogni anno si hanno circa 10.000 decessi per intossicazioni acute, cui si accompagnano circa 1.500.000 casi di avvelenamenti più o meno gravi. È importante notare che nel 1978 il 63% di decessi era imputabile a farmaci e questa percentuale successivamente non sembra essere molto cambiata. Se i decessi e gli avvelenamenti più o meno gravi imputabili ai fitofarmaci negli stessi Stati Uniti sono ogni anno circa 150 e 15.000 rispettivamente, ne consegue che gli antiparassitari sono quindi responsabili solo dell'1,5% dei decessi totali e dell'1% degli avvelenamenti in genere.

Si tenga presente che circa il 50% dei decessi totali così come di quelli da fitofarmaci sono imputabili a suicidio. In realtà su 1.500.000 casi di avvelenamenti ne vengono descritti solo un 10%. La tabella 6 riporta i casi riportati negli Stati Uniti nel solo 1979. Si può notare che i prodotti antiparassitari ne sono responsabili per il 5,3%, i farmaci per il 45,6%.

Tabella 6 — Avvelenamenti accidentali registrati negli Stati Uniti nel 1979.

Tipo di prodotto	Sotto i 5 anni di età		Totale di tutte le età	
	N.	%	N.	%
Farmaci	34.710	40,7	65.791	45,6
Smacchiatori e simili	12.692	14,9	17.701	12,3
Prodotti del petrolio	2.468	2,9	5.117	3,5
Cosmetici	9.563	11,2	10.782	7,5
Fitofarmaci	4.359	5,1	7.683	5,3
Gas e vapori	93	0,1	1.496	1,03
Vegetali	10.754	12,6	13.793	9,6
Trementina, vernici ecc.	3.520	4,1	5.727	4,0
Miscellanea, non specificato	7.126	8,4	16.164	11,2
Totale	85.262	100,0	144.262	100,0

Per quanto concerne l'Italia l'incidenza delle intossicazioni è simile a quella degli Stati Uniti o di altri paesi industrializzati. Il problema è diverso se si considera invece la situazione mondiale. Nella tabella 7 sono riportati i casi di

intossicazione di massa che erano stati registrati fino al 1969 (Klaassen *et al.*, 1986). Si nota una netta prevalenza di incidenza e di gravità in paesi largamente sottosviluppati. Un grave episodio verificatosi in Marocco nel 1959 verrà descritto più avanti. In Italia è da ricordare l'episodio della diossina a Seveso. Negli ultimi 20 anni la situazione dovrebbe essere migliorata per una accresciuta e più generalizzata consapevolezza dei pericoli insiti nell'impiego di queste sostanze. Si rimanda comunque ad altra sede per una più accurata disamina dell'incidenza e della gravità degli effetti tossici acuti e cronici nell'uomo (Clayton e Clayton, 1981).

Accanto alle intossicazioni acute o avvelenamenti cui si è fatto fin qui cenno, non si possono dimenticare le possibilità di intossicazioni croniche e di alterazioni dello sviluppo embrionale o fetale. Le prime causano le cosiddette malattie professionali in chi si è esposto sia pure a piccole dosi, ma per un lungo periodo di tempo.

Tabella 7 — Intossicazioni di massa da antiparassitari registrate fino al 1969.

Fitofarmaco	Materiale contaminato	Numero di intossicati	Numero di decessi	Località
Endrin	farina	159	0	Galles
Endrin	farina	691	24	Qatar
Endrin	farina	183	2	Arabia del Sud
Dieltrin	cibo	20	0	Mercantile in mare
Diazinon	miscela per frittelle	20	0	Stati Uniti
Parathion	frumento	360	102	India
Parathion	orzo	38	9	Malesia
Parathion	farina	200	8	Egitto
Parathion	farina	600	88	Colombia
Parathion	zucchero	300	17	Messico
Parathion	lenzuola	3	0	Canada
Mevinphos	pantaloni	6	0	Stati Uniti
Hexachlorobenzene	granaglie	> 3.000	3-11%	Turchia
Mercurio organico	granaglie	34	4	Pakistan
Mercurio organico	granaglie	321	35	Iran
Mercurio organico	granaglie	45	20	Guatemala
Warfarin	esca per ratti	14	2	Corea
Toxaphene	cavoli e cardi	7	0	Stati Uniti
Nicotina	mostarda	11	0	Stati Uniti
Parathion	usato per il pidocchio	> 17	15	Iran
Pentachlorophenol	pannolini per bambini	20	2	Stati Uniti

Le seconde provocano l'aborto o la nascita di neonati portatori di malformazioni o di manifestazioni tossiche. Infine la possibilità di comparsa di tumori come conseguenza della esposizione ad agenti chimici rappresenta una altra fonte di preoccupazioni (Goldstein, 1974; Klaassen *et al.*, 1986; Levine, 1986).

Valutazione della tossicità

La farmacologia e tossicologia generale insegnano che non esiste sostanza del tutto priva di effetti tossici. Infatti qualunque agente chimico, sia pure a dosi molto elevate e/o attraverso appropriate vie di esposizione, è in grado di provocare effetti tossici. D'altra parte si è già anche detto come la maggior parte degli agenti chimici usati come fitofarmaci non siano altamente selettivi e come la loro elevata presenza nell'ambiente rendano molto frequenti le occasioni di intossicazione. Si comprende quindi facilmente come la sperimentazione tossicologica sia di fondamentale importanza onde evitare l'immissione sul mercato di sostanze eccessivamente tossiche o allestire le adeguate misure di protezione durante il loro impiego (Goldstein, 1974; Marquis, 1986; Levine, 1986).

I metodi impiegati per studiare gli effetti tossici dei fitofarmaci sono gli stessi impiegati nella sperimentazione preclinica dei farmaci. Con le opportune modifiche essi possono essere applicati anche ad agenti chimici ad uso industriale, agricolo o domestico. Si tratta di una serie di prove *in vivo* ed *in vitro* che sono in grado di fornire per ciascuna sostanza chimica un accurato profilo tossicologico. Per una più dettagliata descrizione dei metodi impiegati si rimanda alla vasta letteratura esistente sull'argomento (Zbinden e Gross, 1979; Hayes, 1982; Homburger *et al.*, 1983; Li, 1985; Rozman e Hanninen, 1986; Costa *et al.*, 1987).

Tossicità acuta

Questa si riferisce agli effetti che sono immediatamente e direttamente provocati dall'esposizione ad una sostanza tossica. Il suo studio nel topo e/o nel ratto è il primo passo di ogni sperimentazione tossicologica e fornisce un parametro molto importante per la valutazione della pericolosità di una qualunque sostanza.

La tossicità acuta viene espressa come DL_{50} (dose letale 50), che corrisponde alla dose in mg/kg di peso corporeo, che, per una unica somministrazione, provoca la morte del 50% degli animali nel giro di 24 h o di 14 giorni. Nella figura 1 è riportata, a mo' di esempio, la determinazione della DL_{50} di un barbiturico nei confronti del topo. Sull'asse delle ascisse sono riportate le dosi iniettate a gruppi di 20 topi e sull'asse delle ordinate le percentuali di animali morti in ciascun gruppo. Una pendenza molto elevata della curva dose-effetto indica che la probabilità di provocare gravi effetti tossici è in forte aumento anche per piccoli incrementi di dose. Le DL_{50} per una grande varietà di sostanze sono reperibili in letteratura ove vengono riportate in base alle vie di somministrazione e alle specie animali usate (Niosh 1981-1984).

I metodi statistici impiegati per la determinazione della DL_{50} sono quelli

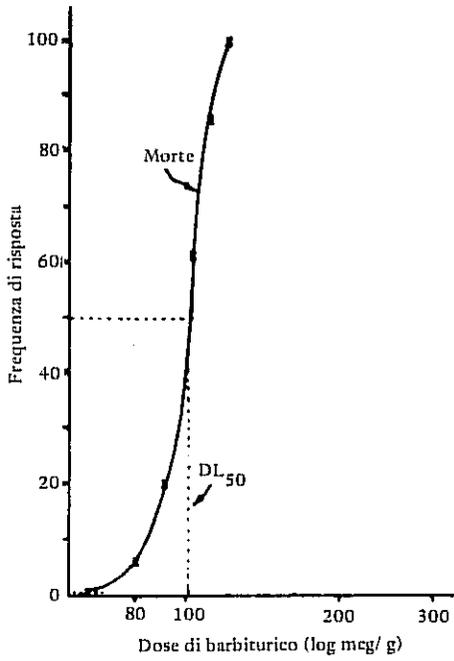


Figura 1 — Determinazione della DL₅₀ di un barbiturico nel topo.

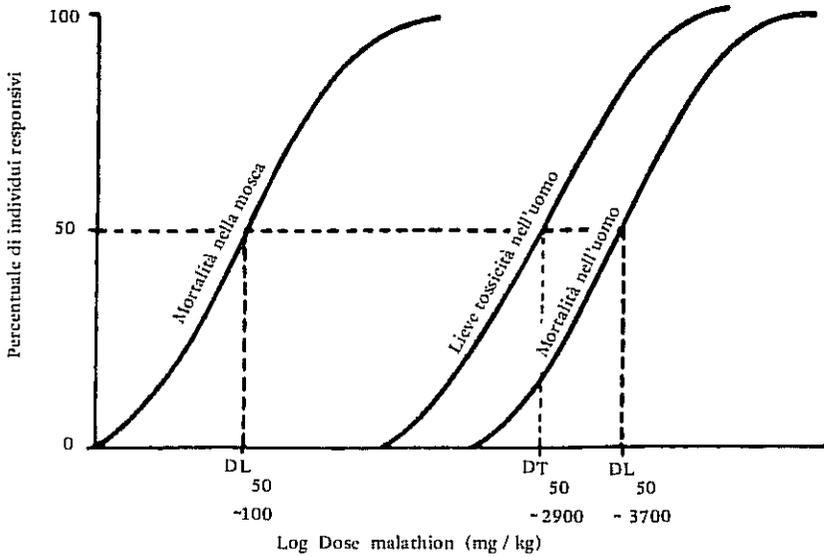


Figura 2 — Valutazione del margine di sicurezza.

riguardanti la elaborazione di dati rappresentati da risposte quantali, ovverossia risposte del tipo tutto o nulla (l'animale muore oppure sopravvive) (Salisbury, 1986).

La determinazione della DL_{50} in una specie indesiderabile e la conoscenza del rapporto dose/effetto tossico nell'uomo consentono di definire il margine di sicurezza insito nell'impiego di un fitofarmaco. Quello del margine di sicurezza è un concetto generale che è sostanzialmente alla base dei parametri di valutazione di cui si dirà più avanti. La figura 2 dimostra come il procedimento descritto nella figura 1 per la determinazione della DL_{50} sia applicabile anche alla valutazione del margine di sicurezza. Nella mosca la DL_{50} del malathion è molto inferiore a quella riscontrata nell'uomo ed è anche molto inferiore alla dose che nell'uomo provoca solo un lieve stato di intossicazione. La figura 2 dimostra però anche che la DL_{50} nell'uomo non è molto superiore ad una dose lievemente tossica nello stesso. Ciò significa che nell'uomo una dose comunque tossica può essere molto vicina a quella letale.

Tabella 8 — Interpretazione dei dati di tossicità animale.

DL_{50} nell'animale (dose/kg)	Grado di tossicità del prodotto in esame	Probabile dose letale in un adulto di 70 kg
0,1 mg	estremamente tossico	un assaggio
1-50 mg	altamente tossico	un cucchiaino da caffè
50-500 mg	moderatamente tossico	due cucchiaini da tavola
500-5.000 mg	lievemente tossico	mezzo litro
5-15 g	praticamente non tossico	un litro
> 15 g	relativamente innocuo	più di un litro

Nella tabella 8 sono riportati alcuni criteri pratici per trasferire i dati di tossicità acuta dall'animale di laboratorio all'uomo. Le probabili dosi letali riportate nella stessa tabella 8 abbisognano però di un commento. Infatti un cucchiaino da caffè contiene circa 4 ml di liquido o 4 g di una sostanza solida, con differenze ovviamente dovute al peso specifico. Un cucchiaino da caffè di una sostanza che ha una DL_{50} di 1 mg/kg (pari a 70 mg per un adulto di 70 kg) è verosimilmente molto più vicino alla dose letale di quanto rappresentato da un cucchiaino da caffè di una sostanza che ha una DL_{50} di 50 mg/kg (pari a 3,5 g per un adulto di 70 kg).

In sede di tossicità acuta vanno però considerati anche alcuni altri aspetti. Innanzitutto, poiché i fitofarmaci vengono spesso a contatto con la cute, se ne deve determinare anche una DL_{50} per via cutanea. La prova viene eseguita nel ratto o nel coniglio applicando il prodotto in esame su un'area cutanea previamente rasata. Inoltre, utilizzando il coniglio, si deve ricorrere a prove che accertino il potere irritante della sostanza in esame a livello dell'occhio oppure della cute. Se ne deve accertare anche il potere di sensibilizzazione allergica

nella cavia, che è un animale nel quale in tema di allergia si rilevano molto spesso dati trasferibili all'uomo. Infine, per una sostanza allo stato gassoso o comunque volatile, la DL_{50} va determinata per via inalatoria o anche per questa via. Nella tabella 9 vengono riportate le indagini di tossicità acuta generalmente richieste per lo studio della tossicità dei fitofarmaci.

Tabella 9 — Indagini richieste per lo studio della tossicità di fitofarmaci.

-
1. **Tossicità acuta:**
 - a) tossicità acuta per os (DL_{50}) nel ratto e/o nel topo;
 - b) tossicità dermale acuta (DL_{50}) nel coniglio;
 - c) tossicità acuta per inalazione (CL_{50}) nel ratto (per sostanze volatili ove C è la concentrazione nell'aria);
 - d) irritazione oculare nel coniglio;
 - e) irritazione cutanea nel coniglio;
 - f) sensibilizzazione cutanea nella cavia;
 - g) neurotossicità acuta ritardata nel pollo (per gli inibitori della colinesterasi).
 2. **Tossicità subcronica:**
 - a) tossicità da somministrazione orale, in miscela con la dieta, per 90 giorni in un roditore (ratto) e in un non-roditore (cane o maiale);
 - b) prove cutanee con dosi ripetute per 21 giorni (ratto, coniglio o cavia);
 - c) tossicità da somministrazione cutanea per 90 giorni (ratto, coniglio o cavia);
 - d) tossicità da inalazione per 90 giorni (ratto);
 - e) neurotossicità per trattamento di 90 giorni nel pollo e in un mammifero.
 3. **Tossicità cronica:**
 - a) somministrazione *per os*, insieme alla dieta, per 1-2-3 anni in un roditore (ratto) e in un non-roditore (cane o maiale);
 - b) studi di cancerogenesi nel ratto e nel topo.
 4. **Teratogenesi:**
 - a) somministrazione in corso di gravidanza (ratto e coniglio);
 - b) studi di riproduzione per due generazioni nel ratto o topo.
 5. **Mutagenesi e carcinogenesi:**
 - a) prove *in vitro*;
 - b) prove *in vivo*;
 6. **Tossicocinetica:**
 - a) caratteristiche generali nel ratto previa somministrazione *per os*;
 - b) prova di assorbimento transcutaneo nel ratto.
 7. **Valutazione della tossicità negli animali domestici**
-

Tossicità subcronica e cronica

La tossicità subcronica o cronica fa riferimento agli effetti di continue o ripetute esposizioni a piccole dosi della sostanza nel corso di un periodo di tempo più o meno lungo. Si assume che la sostanza si accumuli nell'organismo fino a raggiungere livelli tossici. Mentre dose e potenza sono i fattori principali della tossicità acuta, la durata dell'esposizione e la stabilità biologica del prodotto svolgono invece un ruolo principale nel determinare la tossicità subcronica o cronica. La persistenza del prodotto nell'ambiente in forma biologicamente attiva è infatti un elemento essenziale nel provocare una lunga

durata di esposizione anche in presenza di un uso non molto prolungato.

Lo studio della tossicità subcronica e cronica viene fatto studiando gli effetti conseguenti ad una somministrazione prolungata di basse dosi. La specie animale più spesso impiegata è il ratto, ma ci si rivolge anche al cane, al maiale o al coniglio. Il periodo di trattamento può andare da 20-90 giorni fino a 2-3 anni. Un prodotto chimico somministrato ad un ratto per un periodo di 1 anno, dato che la vita media del ratto è sui 3 anni, crea una situazione analoga a quella di un uomo che assume la stessa sostanza per circa 20-25 anni. La via di somministrazione va scelta in base alla via di assorbimento prevedibile nel corso dell'impiego pratico del fitofarmaco. Una sostanza solida o liquida potrà quindi venire assorbita per via orale o per via cutanea. Per una sostanza gassosa o comunque facilmente evaporabile si dovrà invece considerare la via inalatoria o per lo meno anche questa. Il potere di sensibilizzazione allergica può essere saggiato anche con somministrazioni ripetute nel corso di 21 giorni. La cavia è l'animale più spesso impiegato. Gli effetti neurotossici vengono studiati in una prova di 90 giorni che utilizza il pollo o un mammifero come il ratto o il coniglio. Le usuali analisi chimico-cliniche, l'andamento del peso corporeo, il comportamento stesso dell'animale e l'esame necroscopico finale forniscono ampia informazione sugli eventuali effetti tossici. La tabella 9 riporta le prove più comunemente eseguite.

Teratogenesi

La somministrazione dell'agente chimico in corso di gravidanza consente di valutarne gli effetti tossici sull'embrione, sul feto e sul neonato, oltre che a carico della madre (Homburger e Goldberg, 1985; Fabro e Scilli, 1986). Il periodo della gravidanza durante il quale la madre viene trattata con il prodotto in esame è ovviamente decisivo al fine di ottenere effetti tossici a livello embrionale, fetale o neonatale. Durante il periodo dello sviluppo embrionale gli agenti chimici possono provocare la morte dell'embrione stesso oppure l'insorgenza di una malformazione. Fino ad ora si è volta l'attenzione quasi esclusivamente alle malformazioni morfologiche ma non si possono escludere "malformazioni" biochimiche. Negli stadi successivi dello sviluppo intrauterino si possono invece avere effetti tossici a carico del feto oppure anche del neonato se l'azione tossica si è sviluppata poco prima del parto. La ripetizione della stessa esperienza su 2 o 3 generazioni successive consente un giudizio sugli effetti tossici a carico del processo riproduttivo.

Tossicocinetica

Le indagini tossicocinetiche permettono di studiare il destino degli agenti chimici negli organismi viventi (Mitchell e Horning, 1984). Un tossico può

essere assorbito per via orale, cutanea o inalatoria. Le prove che studiano l'assorbimento attraverso la cute consentono conoscenze atte a predisporre misure onde impedire l'assorbimento del tossico stesso. I processi di biotrasformazione ed escrezione del prodotto in esame possono fornire informazioni utili a favorirne una più rapida eliminazione in caso di avvelenamento.

Tossicità dei metaboliti

Lo studio dei metaboliti, cioè dei prodotti della biotrasformazione, rivela spesso come questi siano talora altrettanto o addirittura più tossici dei prodotti originari. Le indagini tossicologiche suddescritte devono essere talora ripetute su questo o quel metabolita data la sua potenziale pericolosità. È inoltre ovvio che lo stesso discorso va fatto per la eventuale presenza di impurità che sono talora molto più tossiche del principio attivo.

Mutagenesi e carcinogenesi

Le indagini di mutagenesi e carcinogenesi valutano gli effetti genotossici in senso stretto degli agenti chimici (Brusick, 1987). Si può sottolineare che le indagini di cancerogenesi a lungo termine vengono in genere escluse nelle prime fasi della ricerca. Infatti si tratta di indagini dai costi molto elevati e con tempi di latenza molto lunghi per quanto concerne i risultati. Pertanto si fa ricorso a queste, soltanto se le preliminari indagini di mutagenesi o di carcinogenesi a breve termine ne mettono in evidenza la necessità.

Tossicità da interazione fra principi attivi

Soltanto relativamente di recente in ambito farmacologico e terapeutico si è cominciato a porre attenzione agli effetti tossici derivanti dall'assunzione contemporanea di 2 o più farmaci (Goldstein *et al.*, 1974; Levine, 1986). Il problema si pone ovviamente anche in campo più strettamente tossicologico, ma la letteratura è ancora del tutto priva di adeguati contributi. D'altra parte i fitofarmaci il più delle volte vengono usati in associazione fra di loro. Se questo può avere effetti utili ai fini della distruzione delle specie dannose, occorrerebbe anche uno studio dei possibili effetti tossici a carico dell'uomo e degli animali domestici o comunque dell'ambiente.

Questo argomento è certamente ancora più importante in campo carcinogenetico ove esistono molte possibili interazioni fra mutageni, antimutageni, non mutageni, promotori, antipromotori, inibitori del sistema di riparo del DNA, induttori enzimatici ecc. (Paolini *et al.*, 1987).

Tabella 10 — Parametri usati negli Stati Uniti per la classificazione dei fitofarmaci in base alla loro tossicità.

Parametri di tossicità	Categoria di tossicità			
	alta	moderata	bassa	relativamente non tossica
DL ₅₀ per os	0-50 mg/kg	50-500 mg/kg	500-5.000 mg/kg	> 5.000 mg/kg
DL ₅₀ per inalazione	0-0,2 mg/l	0,2-2,0 mg/l	2-20 mg/l	> 20 mg/l
DL ₅₀ per via cutanea	0-200 mg/kg	200-2.000 mg/kg	2.000-20.000 mg/kg	> 20.000 mg/kg
Effetti oculari	corrosivo: opacità corneale non reversibile prima di 7 giorni	opacità corneale reversibile entro 7 giorni; irritazione persistente per 7 giorni	assenza di opacità corneale; irritazione reversibile entro 7 giorni	assenza di irritazione
Effetti cutanei	corrosivo	ancora irritazione dopo 72 ore	ancora moderata irritazione dopo 72 ore	solo lieve irritazione dopo 72 ore

Parametri di classificazione e dosi soglia

I risultati ottenuti nella parte sperimentale della ricerca tossicologica servono per formulare criteri di classificazione dei fitofarmaci (Klaassen *et al.*, 1986; Levine, 1986). Un esempio riguardante gli Stati Uniti è riportato nella tabella 10. Tuttavia la valutazione del grado di tossicità di una sostanza deve servire soprattutto per la elaborazione di dosi soglia che guidino chi è preposto al controllo o all'uso della sostanza stessa al fine di evitarne gli effetti tossici. Nella tabella 11 vengono riportate alcune dosi soglia ottenute dai dati tossicologici.

Tabella 11 — Dosi soglia per i fitofarmaci.

1. N.O.E.L. (no observed effect level)
2. A.D.I. (acceptable daily intake)
3. Quantità massima dei residui dei principi attivi nei cibi e nell'acqua potabile (Q.M.R.)
4. Valori di concentrazione limite stimati per l'uomo
5. Allocazione per teratogenesi, cancerogenesi e mutagenesi

Innanzitutto si deve calcolare la cosiddetta N.O.E.L., che è la dose massima alla quale non si osserva ancora alcun effetto tossico. Essa viene desunta dalle esperienze di tossicità acuta e cronica nonché di teratogenesi, mutagenesi e carcinogenesi.

La A.D.I. è invece la dose che si ritiene possa essere assunta giornalmente da un adulto senza che ne risenta alcun effetto tossico. Dalla N.O.E.L. e dall'A.D.I. si ricava la quantità massima dei residui che può essere presente presente nei cibi e nell'acqua senza renderli pericolosi.

Il calcolo dell'A.D.I. (acceptable daily intake), cioè di una accettabile assunzione giornaliera, è dato da

$$A.D.I. = \frac{N.O.E.L.}{100} \text{ oppure } A.D.I. = \frac{N.O.E.L.}{1.000}$$

dove N.O.E.L. (no observed effect level) è la dose più alta espressa in mg/uomo che non provoca effetti tossici e 100 (oppure 1.000) è un fattore che fornisce un margine di sicurezza. A seconda dei criteri impiegati per valutare la pericolosità del prodotto si usa 100 oppure 1.000.

Tabella 12 — Scheda proposta dal "Sottogruppo: Indagini tossicologiche sugli erbicidi".

-
1. *Tossicologia generale*
 - 1.1 Tossicità acuta
 - 1.2 Tossicità cronica
 - 1.3 Tossicocinetica
 - 1.4 Tossicodinamica (meccanismo d'azione)
 - 1.5 Effetti su riproduzione, fertilità ed embriotossicità
 2. *Teratogenesi*
 3. *Cancerogenesi*
 4. *Mutagenesi*
 - 4.1 Mutazione genica
 - 4.2 Danno e riparo al DNA
 - 4.3 Anomalie cromosomiche
 5. *Tossicologia dei metaboliti*
 - 5.1 Teratogenesi
 - 5.2 Cancerogenesi
 - 5.3 Mutagenesi
 - 5.3.1 Mutazione genica
 - 5.3.2 Danno e riparo al DNA
 - 5.3.3 Anomalie cromosomiche
 6. *Interazione tra principi attivi*
 7. *Valutazione del sottogruppo*
 - 7.1 Allocazione per teratogenesi, cancerogenesi e mutagenesi
 - 7.2 N.O.E.L. (no observed effect level)
 - 7.3 A.D.I. (acceptable daily intake)
 - 7.4 Quantità massima dei residui dei principi attivi nei cibi e nell'acqua potabile (Q.M.R.)
 - 7.5 Valori di concentrazione limite stimati per l'uomo
 8. *Raccomandazioni*
 9. *Bibliografia*
-

La quantità massima dei residui (Q.M.R.), espressa come mcg/l, ammessa in un litro di acqua potabile è calcolata da

$$Q.M.R. = \frac{A.D.I.}{2 \times 10}$$

ove 2 sono i litri d'acqua mediamente assunti in un giorno da un adulto e 10 è un fattore che fornisce un margine di sicurezza.

Il valore di concentrazione limite stimata per l'uomo discende dai para-

metri suddescritti e rappresenta la concentrazione massima del prodotto nell'aria ambiente, espressa come mg/m^3 .

La cosiddetta allocazione per teratogenesi, cancerogenesi e mutagenesi implica un giudizio sulla possibilità di ottenere detti effetti tossici.

Infine la tabella 12 riproduce la scheda che viene proposta per la raccolta dei dati e per la valutazione degli erbicidi attualmente studiati dal "Sottogruppo: Indagini tossicologiche sugli erbicidi" della Regione Emilia Romagna.

Tossicità dei fitofarmaci

In questa sede si accenna soltanto ai fitofarmaci più importanti (Klaassen *et al.*, 1986). Per una completa elencazione di questi prodotti e delle loro DL_{50} si rimanda alla letteratura (Niosh, 1981-1984; Gelosi, 1983; Worthing, 1987).

Composti organofosforici

Si tratta di esteri dell'acido fosforico o di suoi analoghi strutturali (Fig. 3). Trovano impiego soprattutto come insetticidi, ma possono anche essere usati come parasimpaticomimetici in terapia medica o come cosiddetti gas nervini. Il DFP, che è impiegato per il trattamento del glaucoma nell'uomo, è un derivato dell'acido fosforico. Da questo derivano anche tre gas nervini, Tabun, Sarin, Soman, che sono potenzialmente destinati ad impieghi bellici, nonché composti quali dichlorvos, chlorfenvinphos, e trichlorfon, che sono fra i più noti insetticidi organofosforici. Altri insetticidi quali diazinon, chlorathion, parathion e methylparathion derivano dall'acido tiosfosforico; altri ancora, quali azinphosmethyl, disulfon, dimethoate e malathion, derivano dall'acido ditiosfosforico. Infine dagli acidi pirofosforico e tiopirofosforico si fanno derivare rispettivamente il TEPP e il sulfotepp. Il TEPP fu il primo derivato organofosforico ad essere usato come insetticida.

Molti derivati organofosforici ad azione insetticida sono efficaci anche contro gli acari; inoltre diversi di essi sono utili anche contro i nematodi.

I derivati organofosforici sono caratterizzati dalla capacità di inibire l'enzima acetilcolinesterasi. Questa è deputata all'idrolisi dell'acetilcolina, che è un neurotrasmettitore molto importante negli insetti, acari, nematodi e mammiferi. La conseguenza dell'inibizione della acetilcolinesterasi è pertanto l'accumularsi di acetilcolina con successiva intensa stimolazione dei recettori colinergici a livello del sistema nervoso centrale e periferico. A ciò sono dovute le azioni insetticida, acaricida e nematocida, nonché quella terapeutica e tossica nei mammiferi.

Per quanto concerne la tossicità acuta gli insetticidi sono gli antiparassitari ai quali si devono i più frequenti casi di intossicazione nell'uomo e negli-

nimali domestici. Nell'ambito degli insetticidi i derivati organofosforici sono quelli più spesso in causa. La loro pericolosità sta anche nel fatto che vengono bene assorbiti sia *per os* che attraverso la cute. Nel loro insieme i derivati organofosforici vanno pertanto considerati come molto tossici. Le loro DL_{50} si distribuiscono comunque in un ambito piuttosto vasto. Nel ratto per via orale si va, per esempio, da una DL_{50} di 1,1 mg/kg per il TEPP fino ai 1.375 mg/kg per il malathion. Il parathion, che è l'insetticida organofosforico più usato, ha nel ratto una DL_{50} per via orale di 13 mg/kg e per via cutanea di 21 mg/kg. A ciò è dovuto il suo coinvolgimento nella maggior parte degli avvelenamenti mortali. Infatti una DL_{50} di 13 mg/kg/os corrisponde per un adulto di 70 kg ad una dose letale di circa 1 g. Sulla base dei criteri esposti nella tabella 8 il parathion va considerato come altamente tossico.

L'intossicazione acuta da derivati organofosforici è caratterizzata dagli effetti della stimolazione dei recettori muscarinici, nicotinici e centrali dell'acetilcolina. Nell'animale da laboratorio, non diversamente da quanto accade nell'uomo, la morte è dovuta ad una asfissia da insufficienza respiratoria. Questa è a sua volta dovuta a paralisi del centro respiratorio bulbare, cui si associano ipersecrezione e costrizione bronchiale, nonché paralisi dei muscoli respiratori. I sintomi della stimolazione dei recettori muscarinici sono bradicardia, miosi, ipersecrezione salivare e bronchiale, broncocostrizione, spasmi della muscolatura intestinale e vescicale con conseguenti diarrea e incontinenza urinaria rispettivamente. La stimolazione dei recettori nicotinici dell'acetilcolina a livello della muscolatura scheletrica provoca crampi e debolezza muscolare fino alla paralisi specie dei muscoli respiratori. Gli effetti centrali comprendono tremori, atassia, convulsioni, paralisi del centro respiratorio bulbare, coma.

Gli insetticidi organofosforici di impiego più frequente vengono biotrasformati ed escreti così velocemente da non rendere possibile un loro accumulo nell'organismo e quindi una intossicazione subacuta o cronica. Tuttavia, poiché la inibizione della acetilcolinesterasi è reversibile solo molto lentamente, si può avere un accumularsi di questo effetto. Il quadro dell'intossicazione ricalca però quello provocato da un'unica alta dose di derivati organofosforici.

Si può assimilare al concetto di tossicità subacuta o cronica la neuropatia periferica da demielinizzazione delle fibre nervose, che è provocata da triesteri fosforici. Il quadro patologico, che risulta in genere da un'unica dose tossica, compare infatti dopo alcuni giorni dall'esposizione, raggiunge un massimo e poi tende a regredire. È caratterizzato appunto da una demielinizzazione che altera la funzionalità delle fibre sensitive e motrici. Ne conseguono parestesie e paralisi periferiche. Il recupero della completa funzionalità richiede anche più di 1-2 anni. In Marocco nel 1959 si ebbe una intossicazione di massa che riguardò almeno 10.000 persone. Queste avevano fatto uso di olio di oliva

adulterato con un olio lubrificante per aerei contenenti il triortocresilfosfato (TOCP), che è l'estere fosforico che più di altri provoca questa sindrome.

Il meccanismo che conduce alla demielinizzazione non è in relazione alla inibizione della acetilcolinesterasi, ma piuttosto al legame di questi derivati organofosforici con una proteina di membrana, la cui integrità sembra essenziale per la normale funzionalità delle fibre nervose. La gallina è l'animale più comunemente impiegato per studiare questi effetti. Essa infatti, come l'uomo, sembra essere particolarmente sensibile a questa neuropatia.

Carbamati

I carbamati costituiscono un gruppo di esteri aromatici e alifatici dell'acido carbamico. Al pari degli esteri fosforici, sono in grado di inibire l'attività della acetilcolinesterasi. Alcuni, quali la neostigmina, trovano impiego come parasimpaticomimetici in terapia umana e veterinaria. Altri, quali il carbaryl, e l'aldicarb, vengono impiegati come insetticidi. Altri ancora, quali il prophan e il barban, sono efficaci come erbicidi. Alcuni derivati dei carbamati, usati come insetticidi, trovano impiego anche come nematodocidi e molluschicidi. Come nematodocidi si possono ricordare l'aldicarb e il carbofuran, come molluschicidi il carbaryl e il methiocarb.

Come erbicidi vengono usati anche alcuni esteri dell'acido tiocarbamico, quali il molinate, che è il capostipite appunto dei tiocarbamati. Infine i ditiocarbamati, che sono esteri dell'acido ditiocarbamico, vengono usati come fungicidi. Ne è un tipico rappresentante il ferbam. La figura 4 mostra le relazioni strutturali fra questi diversi gruppi di derivati.

Mentre i tiocarbamati sono anch'essi inibitori della acetilcolinesterasi, i ditiocarbamati non posseggono questa proprietà. I carbamati devono le loro azioni insetticida, nematodocida e molluschicida, nonché quelle tossiche nei mammiferi, alla inibizione della acetilcolinesterasi. I tiocarbamati sono tossici nei mammiferi per lo stesso motivo; non è invece ancora chiaro il meccanismo dell'azione tossica dei ditiocarbamati.

I carbamati, a differenza dei composti organofosforici, provocano una inibizione della acetilcolinesterasi che è di tipo reversibile. Infatti, dopo un tempo più o meno lungo, l'acetilcolinesterasi riprende la sua normale attività di idrolisi della acetilcolina. I carbamati e i tiocarbamati usati come erbicidi hanno un'attività anticolinesterasica che è ancora più debole. Per quanto concerne l'azione erbicida, quella dei carbamati usati a tale scopo la si deve ad una inibizione della sintesi proteica, quella dei tiocarbamati ad una interferenza con la sintesi dei lipidi nelle stesse cellule vegetali. L'azione fungicida dei ditiocarbamati sarebbe legata alla loro capacità di ionizzarsi.

La tabella 13 riporta i più importanti insetticidi ad azione anticolinesterasica impiegati negli Stati Uniti nel 1982.

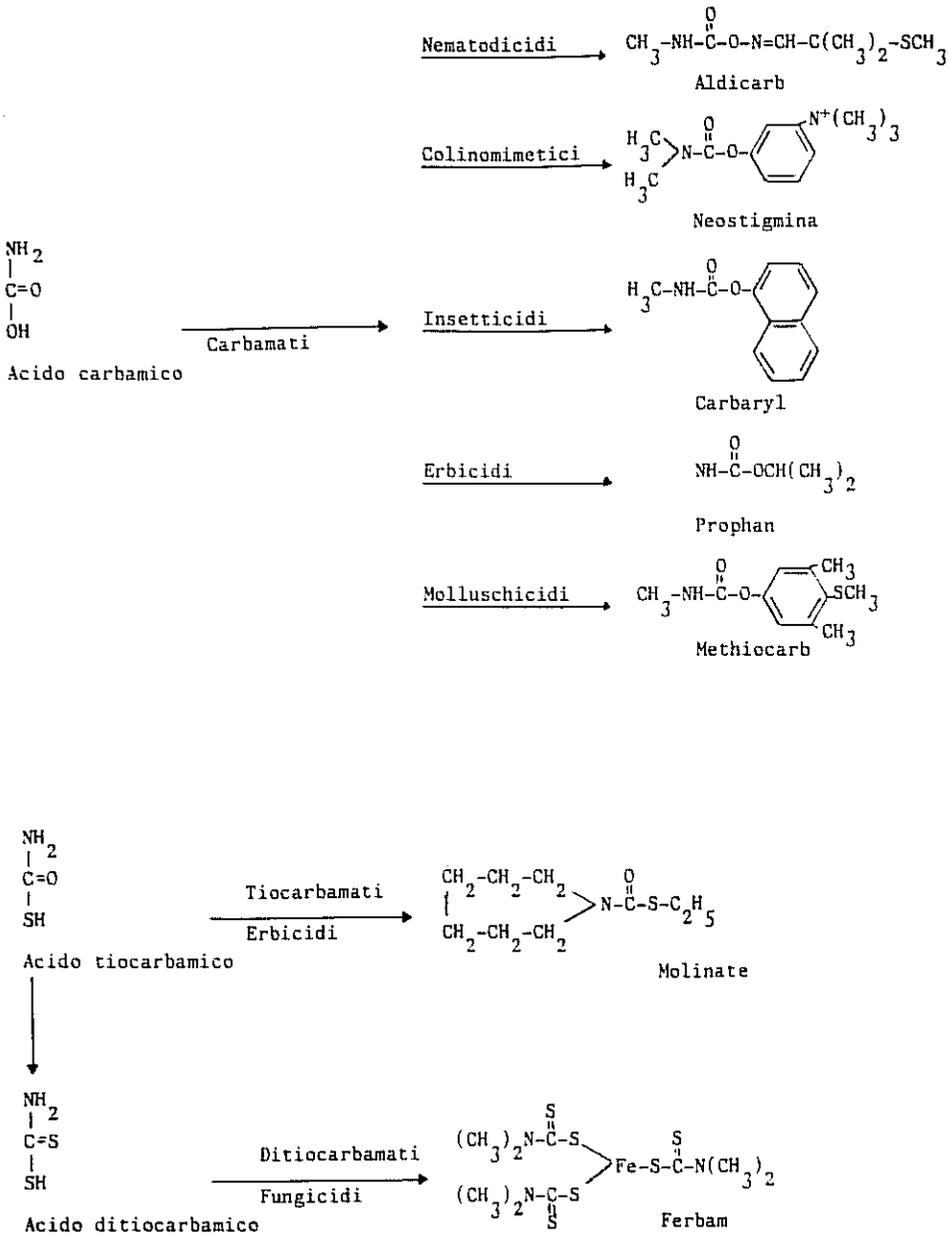


Figura 4 — Fitofarmaci derivati dall'acido carbamico.

La tossicità acuta per via orale dei carbamati insetticidi presenta una varietà di valori paragonabile a quella dei derivati organofosforici. Infatti nel ratto le DL_{50} vanno dagli 0,8 mg/kg dell'aldicarb fino agli 850 mg/kg del carbaryl. Tuttavia la maggior parte di questi derivati, sempre rispetto agli esteri fosforici, è molto meno tossica per via cutanea. Fa però eccezione l'aldicarb, che è molto tossico anche per via cutanea, con una DL_{50} nel ratto pari a 3 mg/kg. Il quadro della intossicazione ricalca comunque quello da esteri fosforici. La reversibilità della inibizione della acetilcolinesterasi la rende però meno grave.

Tabella 13 — Insetticidi anticolinesterasici usati per le più importanti coltivazioni negli Stati Uniti nel 1982.

Coltura	Classe di insetticidi (milioni di kg)	
	Carbamati	Organofosforici
Granoturco	carbaryl (0,1) carbofuran (2,4)	chlorpyrifos (1,8) diazinon (0,1) fonofos (2,3) isofenphos (0,6) parathion (0,04) phorate (1,7) terbufos (3,9)
Soia	carbaryl (0,7) methomyl (0,3)	disulfoton (0,04) methyl parathion (1,2)
Cotone	methomyl (0,3)	azinphosmethyl (0,3) diclotophos (0,1) EPN (1,6) methyl parathion (3,3) monocrotophos (0,1) sulprofos (0,2)
Sorgo	carbofuran (0,4)	chlorpyrifos (0,1) dimethoate (0,04) malathion (0,2) methyl parathion (0,04) parathion (0,2)
Arachidi	aldicarb (0,1) carbaryl (0,1) carbofuran (0,04) methomyl (0,04)	
Tabacco	carbaryl (0,04) methomyl (0,04)	acephate (0,3) disulfon (0,04) ethoprop (0,6) fensulfathion (0,1) monocrotophos (0,04)
Riso	carbofuran (0,04)	methyl parathion (0,1)
Frumento		diazinon (0,1) malathion (0,04) methyl parathion (0,2) parathion (0,7)

I carbamati e i tiocarbamati usati come erbicidi sono in genere molto meno tossici sia per via orale che per via cutanea. Il prophan ha nel ratto e nel coniglio per via orale DL_{50} di circa 5.000 mg/kg. Il barban, con una DL_{50} per via orale nel ratto e nel coniglio di 600 mg/kg, è un poco più tossico; nella cavia per la stessa via è ancora più tossico con una DL_{50} di 24 mg/kg.

I ditiocarbamati, che hanno nel ratto DL_{50} per via orale che vanno da 500-600 mg/kg fino a 3-4 g/kg, sono da considerarsi solo lievemente o praticamente non tossici.

Per quanto concerne la tossicità cronica, il carbaryl, somministrato per diversi mesi con la dieta a ratti e cani a dosi di 400 ppm, ha provocato la comparsa di alterazioni a livello delle cellule dei tubuli contorti prossimali del rene. Questo dato può essere messo in relazione con alterazioni della funzionalità renale osservate in volontari umani che hanno ingerito per diverse settimane 0,12 mg/kg/die di carbaryl.

I carbamati e tiocarbamati erbicidi non presentano particolari segni di tossicità cronica. Il prophan nel ratto, somministrato per 3 mesi con la dieta a dosi di 1.000 ppm, non ha provocato alcuna alterazione. Il barban è parimenti privo di effetti tossici, se somministrato al ratto con la dieta alla dose di 150 ppm per 18 mesi. Il barban è tuttavia un potente allergizzante cutaneo nell'uomo.

Infine, circa la teratogenicità dei carbamati, il carbaryl ha dimostrato di essere teratogeno in diverse specie di animali da laboratorio, anche se a dosi vicine a quelle tossiche per la madre. Nel cane l'effetto teratogeno sembra invece comparire a dosi 10 volte inferiori a quelle tossiche per la madre. Ciò sembra dovuto al fatto che nel cane il carbaryl non è biotrasformato a 1-naftolo come nell'uomo e in altre specie animali. Analogamente i ditiocarbamati vengono riportati come teratogeni in varie specie animali.

Composti organoclorurati

Gli insetticidi organoclorurati comprendono i derivati dell'etano, quali il DDT, i ciclodieni come l'aldrin, e gli esaclorocicloesani come il lindane (Fig. 5).

Essi possono essere considerati dei veleni nervini. Tuttavia, a differenza degli organofosforici e dei carbamati, non inibiscono la acetilcolinesterasi e per la gran parte di essi il meccanismo d'azione è ancora in parte ignoto. Il sito della principale azione tossica del DDT sembra però risiedere nelle fibre nervose sia sensitive che motrici, nonché nella corteccia motrice. Il DDT altera gli scambi di sodio o potassio a livello delle fibre nervose. In questo senso vi sarebbero analogie con l'azione degli insetticidi piretroidi. I derivati del ciclo-diene e gli esaclorocicloesani agirebbero anch'essi a livello del sistema nervoso centrale con un meccanismo analogo a quello del DDT. Non si possono però escludere altri meccanismi d'azione. Il meccanismo dell'azione insetti-

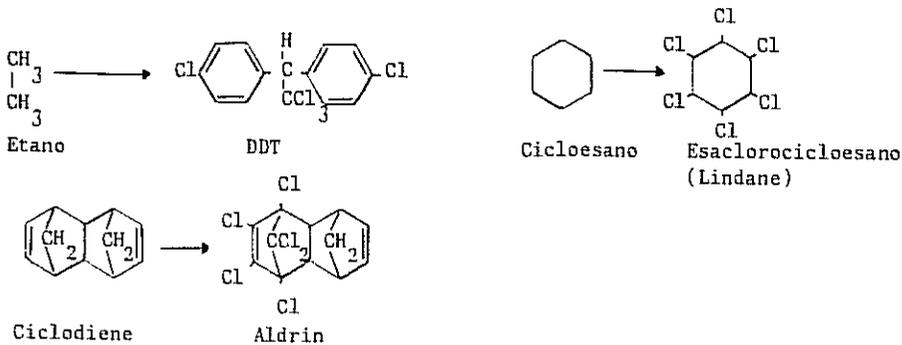


Figura 5 — Insetticidi organoclorurati.

cida sembra essere analogo a quello dell'azione tossica nei mammiferi.

Gli insetticidi organoclorurati derivati dall'etano, quali il DDT, tendono ad avere una tossicità acuta inferiore a quella dei derivati organofosforici e dei carbamati e in particolare ad essere molto meno tossici per via cutanea. Il DDT ha infatti nel ratto una DL_{50} di 113 mg/kg per via orale e di 2.510 mg/kg per via cutanea. Nell'animale il quadro dell'intossicazione acuta, che compare qualche ora dopo la somministrazione, comprende disturbi dell'equilibrio, ipersuscettibilità agli stimoli, ipermotilità, tremori, convulsioni toniche e cloniche. La morte interviene dopo 24-72 ore. Tuttavia se le alterazioni funzionali provocate da alte dosi di DDT sono riferibili a suoi effetti sul sistema nervoso centrale, da un punto di vista anatomopatologico le alterazioni a quel livello sono modeste. D'altra parte l'esposizione a dosi non fatali di DDT sembra invece provocare alterazioni soprattutto a carico del fegato con segni di necrosi centrolobulare.

Nell'ambito dei derivati ciclodienici e dei cicloesani si trovano invece prodotti decisamente più tossici sia *per os* che per via cutanea. L'endrin ha una DL_{50} di 18 mg/kg per entrambe le vie di esposizione. L'aldrin e il dieldrin in 12 specie animali hanno DL_{50} fra i 20 e i 70 mg/kg, ciò che li qualifica per prodotti altamente tossici. In particolare nel ratto per via orale le DL_{50} dell'aldrin e del dieldrin sono rispettivamente di 39 e 46 mg/kg, per via cutanea di 98 e 90 mg/kg. Il lindane, che ha nel ratto una DL_{50} per via orale di 88 mg/kg, è per questa via molto più tossico che per via cutanea, ove la DL_{50} è di 1.000 mg/kg.

Il quadro della intossicazione acuta è comunque molto simile a quello provocato dal DDT, anche se più grave. Infatti mentre nell'uomo i decessi da DDT sono in pratica sconosciuti, numerosi sono quelli provocati dai derivati ciclodienici e dal lindane.

Nel complesso, nonostante la tossicità acuta dei ciclodieni e degli esaclorocicloesani, gli insetticidi organoclorurati sono stati largamente impiegati in agricoltura per circa 20 anni. Alla metà degli anni 60 il loro impiego cominciò

invece ad essere drasticamente ridotto. Si era infatti dimostrato che essi tendono a persistere nell'ambiente e ad accumularsi negli organismi viventi. La possibilità di effetti tossici cronici è stata allora presa in particolare considerazione.

La somministrazione nel ratto di DDT con la dieta a dosi di 5-15 ppm per 6 mesi ha infatti provocato la comparsa di alterazioni epatiche analoghe a quelle già descritte come conseguenza di dosi non fatali dello stesso DDT. L'aldrin e il dieldrin a dosi pari a 5-150 ppm hanno provocato analoghi effetti in varie specie animali. Tuttavia nell'animale da laboratorio e nell'uomo deve ancora essere ulteriormente chiarita la possibile influenza di una cronica esposizione. Vi sono invece convincenti dimostrazioni che il DDT o i suoi metaboliti sono in grado di influire negativamente sui processi riproduttivi di certe specie di uccelli selvatici, presumibilmente attraverso una alterazione di equilibri ormonali. Gli uccelli si intossicherebbero in quanto si ciberebbero di organismi nei quali i derivati organoclorurati sono andati accumulandosi. L'alterazione dell'ambiente è inoltre dovuta al fatto che molti pesci ed altri organismi acquatici sono molto sensibili anche agli effetti tossici acuti del DDT.

Infine il lindane è stato sospettato di essere la causa di vari casi di anemia aplastica. Al riguardo non vi è però nessuna certa dimostrazione. Potrebbe trattarsi di una rara reazione idiosincrasica che sfugge all'indagine nell'animale da laboratorio.

Derivati dell'urea

Mentre la maggior parte di questi composti vengono usati come erbicidi, ve ne sono alcuni che trovano impiego come insetticidi. Inoltre la α -naftiltiurea, che è un derivato della tiourea, viene usato come rodenticida. La figura 6 mostra le relazioni strutturali fra le tre classi di fitofarmaci derivati dall'urea.

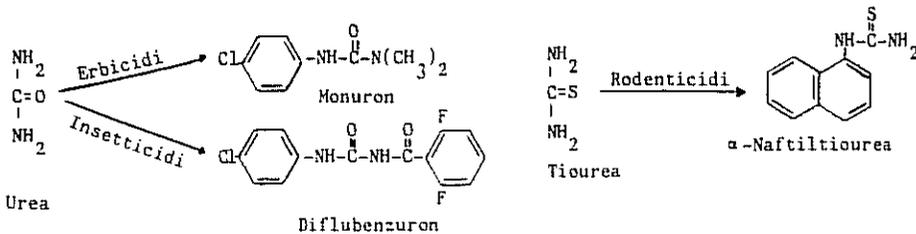


Figura 6 — Fitofarmaci derivati dall'urea.

Negli insetti i derivati dell'urea agiscono inibendo la sintesi della chitina connessa con lo sviluppo della cuticola e quindi con il normale svolgimento

delle mute. L'azione erbicida è invece dovuta ad una inibizione della fotosintesi. Nell'uomo e nei mammiferi il meccanismo dell'azione tossica non è invece ancora chiarito. L'azione tossica dell' α -naftiltiourea nei roditori e negli altri animali, ivi compreso l'uomo, sembra dovuto ad un blocco di gruppi sulfidrilici.

È interessante notare che le ricerche che condussero all' α -naftiltiourea erano cominciate con la feniltiourea, che fu il primo derivato dell'urea per il quale si era dimostrata un'elevata tossicità nel ratto, mentre per l'uomo risultava praticamente non tossico. Il sapore amarissimo della feniltiourea ne impediva però l'impiego pratico, in quanto i roditori non la mangiavano. Successive indagini condussero all' α -naftiltiourea, che manca appunto di questa caratteristica organolettica.

I derivati dell'urea, sia quelli usati come erbicidi che quelli ad azione insetticida, hanno nel ratto DL_{50} così elevate da poter essere considerati al massimo come solo lievemente tossici. Il monuron e il diuron, che sono tipici esempi di erbicidi derivati dall'urea, hanno nel ratto per via orale DL_{50} superiori a 3.000 mg/kg. Il diflubenuron, sempre nel ratto e per via orale, ha una DL_{50} di circa 4.600 mg/kg.

Derivati dell'anilina

Mentre le dinitroaniline, quali il trifluralin e il benefin, trovano impiego come erbicidi, le mononitroaniline, quali il dicloran, sono efficaci come fungicidi. Nell'ambito degli esteri dell'anilina o anilidi si annoverano sia erbicidi, come il propanil, che fungicidi, come il metalaxyl. La figura 7 mostra le relazioni strutturali fra i derivati dell'anilina impiegati come antiparassitari.

Il meccanismo dell'azione erbicida non è ancora chiarito. Le anilidi sembrano inibire il metabolismo degli acidi nucleici, le dinitroaniline interferirebbero con i processi mitotici. L'azione fungicida dei derivati anilini si esplicherebbe attraverso una alterazione della sintesi degli acidi nucleici. Il meccanismo degli effetti tossici nei mammiferi è ancora oscuro.

Infine si può accennare a derivati dimetililanilini, come l'amitraz, che posseggono un'azione insetticida e acaricida. Questa sembra dovuta ad un'azione sul sistema nervoso degli insetti con inibizione della monoaminoossidasi e quindi alterazione del metabolismo dei neurotrasmettitori. Nei mammiferi il meccanismo dell'azione tossica non è ancora chiarito.

Un aspetto particolare è costituito dalla metaemoglobinemia con conseguente cianosi che si osserva in topi trattati con propanil. Si è dimostrato che la metaemoglobinemia è dovuta alla idrolisi del propanil a 3,4 dicloroanilina. L'azione letale acuta è però dovuta ad altre cause ancora sconosciute.

I derivati anilini, al pari di quelli ureici, hanno comunque nei mammiferi una tossicità molto bassa. Nel ratto per via orale il trifluralin e il benefin hanno

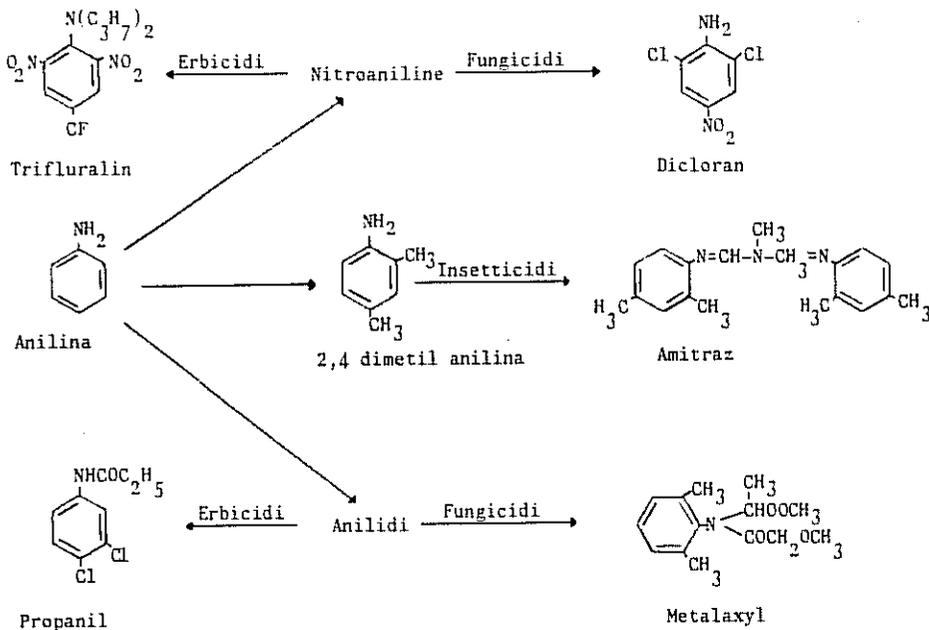


Figura 7 — Fitofarmaci derivati dell'anilina.

DL₅₀ superiori a 10.000 mg/kg, il propanil ha una DL₅₀ pari a circa 1.300 mg/kg. I fungicidi come il dicloran e il metalaxyl hanno nel ratto per via orale DL₅₀ pari rispettivamente a 4.000 e 669 mg/kg. L'amitraz nella stessa specie animale e per la stessa via ha una DL₅₀ di 800 mg/kg. Non si conoscono sicuri effetti tossici cronici. Ratti e cani alimentati per 2 anni con diete contenenti 1.000 ppm di trifluralin e benefin non hanno mostrato alcuna alterazione. Il dichloran ha però provocato la comparsa di opacità corneali nel cane trattato con 48 mg/kg/die.

Derivati del benzene

Nella figura 8 sono riportate le relazioni strutturali in una serie di derivati del benzene caratterizzati da azione erbicida e fungicida. Il dichlobenil e il chlorothalonil possono essere considerati come tipici rappresentanti dei derivati del benzonitrile impiegati rispettivamente come erbicidi e fungicidi. I derivati del benzonitrile devono la loro azione tossica nei mammiferi ad un disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa. L'azione erbicida sarebbe dovuta ad una inibizione della sintesi dei lipidi, quella fungicida ad un blocco di gruppi sulfidrilici. Il dicamba e il chloramben sono erbicidi derivati dall'acido benzoico; il naptalam è un erbicida derivato dall'acido ftalico. I derivati di acidi aromatici devono la loro azione tossica nell'uomo a meccanismi non ancora

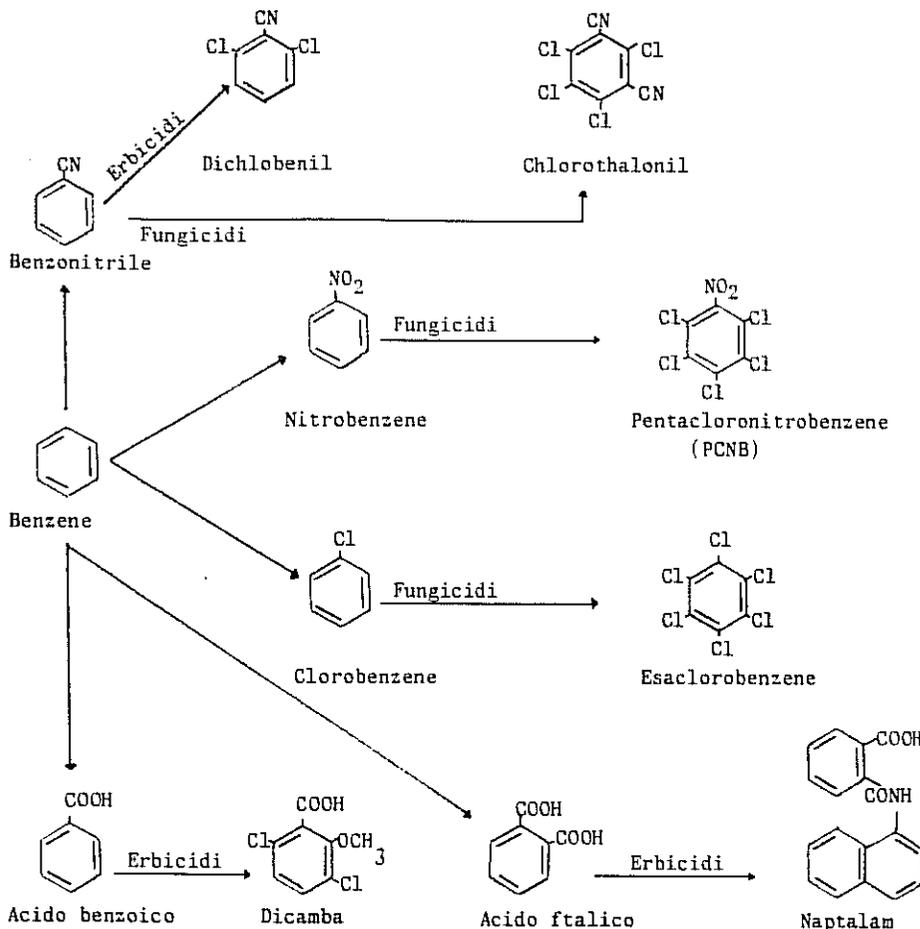


Figura 8 — Derivati del benzene usati come erbicidi o fungicidi.

chiariti: l'azione erbicida sembra dovuta ad una inibizione della sintesi proteica.

I fungicidi sono inoltre rappresentati da derivati del nitrobenzene e del clorobenzene, quali rispettivamente il pentacloronitrobenzene e l'esaclorobenzene. Non è chiaro quale sia il meccanismo dell'azione fungicida dei derivati del nitrobenzene e del clorobenzene. Nell'uomo la loro azione tossica va riferita a quella del benzene.

Il dichlobenil e lo ioxnyl, che è un altro erbicida derivato del benzonitrile, hanno nel ratto per via orale DL_{50} pari a 270 e 110 mg/kg rispettivamente. Il fungicida chlorothalonil, pur essendo un derivato benzonitrilico, è molto meno tossico. Esso ha infatti nel ratto per via orale una DL_{50} superiore 10.000 mg/kg. Il dicamba e il chloramben hanno nel ratto per via orale DL_{50} pari a 757-2.900 e

3.500-5.620 mg/kg rispettivamente. Il naptalam ha nel ratto una DL_{50} per via orale pari a 8.200 mg/kg. I fungicidi come il pentacloronitrobenzene e l'esaclobenzene, che hanno nel ratto DL_{50} nell'ordine dei 1.200-1.650 mg/kg oppure dei 10.000 mg/kg rispettivamente, sono lievemente o addirittura praticamente non tossici.

In conclusione tutti i derivati del benzene hanno tossicità tali da classificarli al massimo come moderatamente tossici. L'esaclobenzene è stato però causa di una grave intossicazione di massa caratterizzata da casi mortali di profiria cutanea tarda.

Per quanto concerne gli effetti tossici cronici, ratti alimentati per 12 settimane, con diete contenenti 50 e 100 ppm rispettivamente di dichlobenil e ioxynil, non hanno mostrato alcun segno di tossicità. Il trattamento cronico del ratto con dicamba alle dosi di 19-25 mg/kg/die o con chloramben alla dose di 500 mg/kg/die non ha evidenziato alcun effetto. Infine va ricordato che dosi molto elevate di pentacloronitrobenzene (500 mg/kg/die) somministrate alla topina gravida hanno provocato un'aumentata incidenza di palatoschisi nei neonati.

Derivati del fenolo

I derivati del fenolo comprendono sia erbicidi che fungicidi. I nitrofenileteri, quali il bromofenoxim, sono efficaci come erbicidi. I dinitrofenoli, come il DNOC e il dinoseb, sono usati come erbicidi. Altri dinitrofenoli, come il dinocap, vengono invece usati come fungicidi. Il pentaclorofenolo è un importante derivato clorurato del fenolo che viene impiegato come fungicida, oltre che come erbicida ed insetticida. Un cenno a parte meritano poi i derivati clorurati dell'acido fenossiacetico che costituiscono uno dei gruppi più importanti di erbicidi. La figura 7 mostra le relazioni strutturali fra i più importanti fitofarmaci derivati del fenolo.

Nei mammiferi l'azione tossica dei dinitrofenoli e dei nitrofenileteri sembra dovuta ad un disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa, che sembra responsabile anche della loro azione erbicida. I dinitrofenoli agiscono invece come fungicidi attraverso una azione lesiva della membrana cellulare. L'azione tossica del pentaclorofenolo nei mammiferi è anch'essa riferibile alla inibizione della fosforilazione ossidativa; come fungicida il suo meccanismo d'azione non è invece chiarito.

La tossicità acuta dei dinitrofenoli erbicidi è superiore a quella dei nitrofenileteri erbicidi e a quella dei dinitrofenoli fungicidi. Infatti nel ratto per via orale il DNOC e il dinoseb hanno DL_{50} pari a 25-40 e 58 mg/kg rispettivamente. D'altra parte il bromofenoxim e il dinocap hanno DL_{50} per via orale nella stessa specie animale pari a 1.217 e 980-1.190 mg/kg rispettivamente. Il quadro della intossicazione acuta da dinitrofenoli erbicidi è quello caratteristico delle so-

stanze che provocano disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa. Gli animali mostrano ipermotilità, aumento della frequenza respiratoria, tachicardia, febbre, cianosi, ed infine collasso e coma. È peculiare la rapida comparsa del *rigor mortis* dopo il decesso. L'intossicazione si aggrava in presenza di una elevata temperatura ambientale.

Il pentaclorofenolo provoca un quadro di intossicazione acuta analoga a quello dei dinitrofenoli e quindi caratterizzato da un aumento del metabolismo basale. Nel ratto per via orale la DL_{50} è di 210 mg/kg. Il PCP viene rapidamente assorbito attraverso la cute. A ciò sono dovuti diversi casi di avvelenamento anche mortale in neonati per i quali si erano usati pannolini contaminati con questo prodotto.

I dinitrofenoli erbicidi e il pentaclorofenolo vanno pertanto considerati come altamente o moderatamente tossici (Tab. 11).

Derivati clorofenossiacetici

Possono anch'essi essere considerati come derivati del fenolo (Fig. 9). I più tipici rappresentanti di questo gruppo di erbicidi sono il 2,4-D e il 2,4,5-T. Il meccanismo dell'azione tossica nei mammiferi è ancora poco conosciuto. Non sembra comunque in relazione a quegli effetti ormonali che sono invece responsabili dell'azione erbicida. Agiscono infatti come fattori di crescita e la pianta muore perché è costretta a crescere troppo in fretta.

Il 2,4-D e il 2,4,5-T, nonché vari loro sali ed esteri, hanno in diverse specie animali DL_{50} per via orale che vanno da 300 a più di 1.000 mg/kg. Pertanto almeno alcuni di essi sono da considerarsi moderatamente tossici. In particolare nel ratto il 2,4-D ha un DL_{50} pari a 375 mg/kg, mentre quella del 2,4,5-T varia da 300 a 1.700 mg/kg a seconda del veicolo e del ceppo animale. Fa in parte eccezione il cane, che sembra essere più sensibile agli effetti tossici dei derivati clorofenossiacetici. Infatti l'estere isopropilico del 2,4,5-T presenta una DL_{50} pari a 100 mg/kg. La intossicazione acuta è caratterizzata da un coinvolgimento della muscolatura miocardica e scheletrica. Le dosi immediatamente letali provocano la morte per fibrillazione ventricolare. Dosi inferiori, per le quali la morte non interviene immediatamente, provocano invece una prima fase con rigidità, atassia e paralisi specie alle estremità. Dosi ancora inferiori determinano la comparsa di ipertonia e debolezza muscolare. L'avvelenamento nell'uomo provoca un quadro analogo a quello descritto per l'animale da laboratorio.

Gli erbicidi di questo gruppo sono inoltre capaci di provocare nell'uomo dermatiti da contatto. A questo riguardo mancano ancora i corrispondenti rilievi nell'animale da laboratorio. Tuttavia gli studi condotti nell'animale da laboratorio hanno sollevato estese preoccupazioni soprattutto per i loro eventuali effetti teratogeni. Infatti esperienze condotte nel ratto avevano eviden-

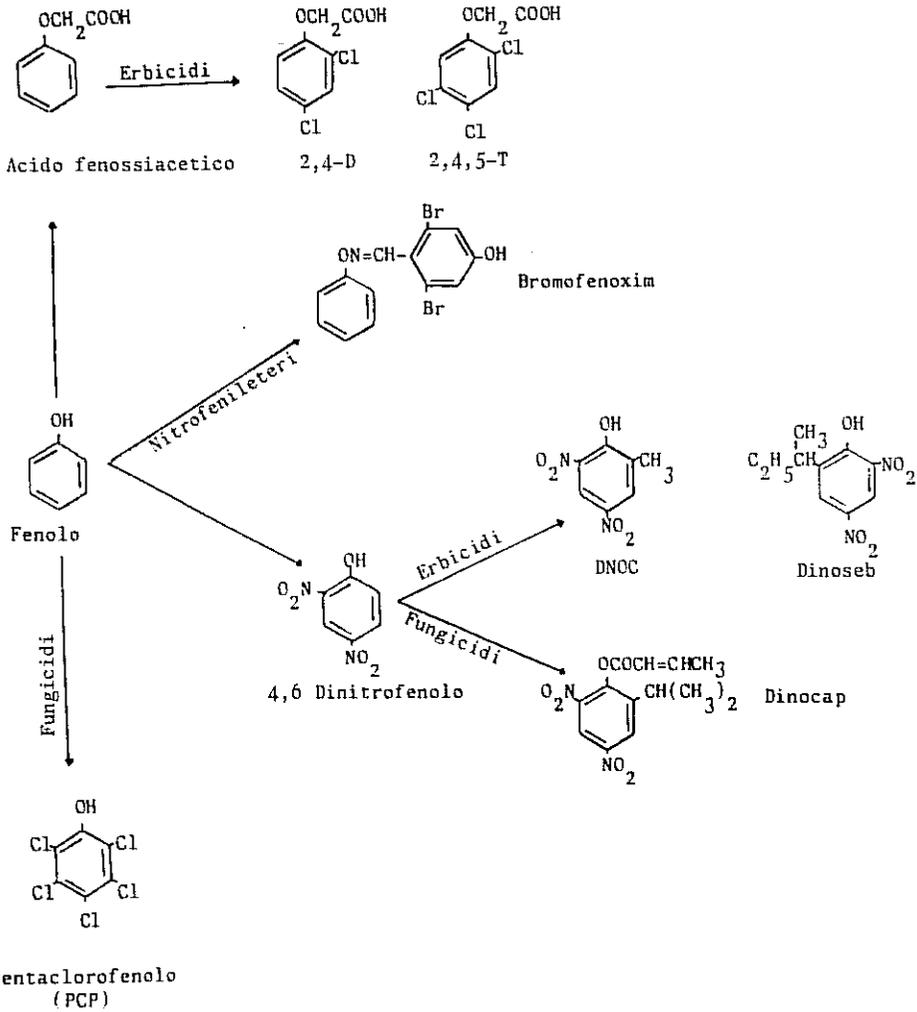


Figura 9 — Derivati fenolici usati come erbicidi o fungicidi.

ziato la comparsa di malformazioni. Successivamente queste vennero però attribuite alla presenza della 2,3,7,8 tetraclorodibenzodiossina. Si dimostrò che questa, meglio nota poi come diossina, si formava durante il processo di sintesi del 2,4,5-T e ne inquinava le preparazioni commerciali. La diossina è estremamente tossica. Ha una DL₅₀ nel ratto femmina di 0,045 mg/kg, il che vuol dire che è circa 10.000 volte più tossica dei 2,4,5-T. Gli effetti teratogeni comparvero trattando le femmine con dosi giornaliere di diossina pari a 1/400 della DL₅₀ per la madre ovvero pari a 0,11 µg/kg/die. La diossina può provocare anche la comparsa di una grave forma di cloroacne.

L'episodio della diossina illustrò un importante principio per la valutazione della tossicità dei prodotti commerciali, e cioè questa può essere dovuta ad una impurità residua ai processi di sintesi o risultante da processi degradativi aventi luogo nell'ambiente.

È interessante ricordare che in campo farmacologico anni prima si era già avuto un episodio analogo. Quando si cominciò ad adoperare l'alotano come anestetico generale, ci si rese conto che, sia pure in una percentuale molto bassa dei pazienti (0,01%), compariva una grave epatopatia. Si poté dimostrare che questa era dovuta alla presenza di uno 0,02% di dicloroesafluorobutene residuo al processo di sintesi. Si ovviò all'inconveniente modificando il processo di sintesi. L'alotano è a tutt'oggi considerato un anestetico generale piuttosto importante, anche se rari casi di epatite sono ancora riscontrabili e forse dovuti a metaboliti che si formano nell'organismo nel corso dell'anestesia stessa.

Successivamente esperienze condotte con campioni di 2,4,5-T molto puro e a dosi di 15-100 mg/kg/die hanno confermato la sua teratogenicità nel topo, ma non quella nel ratto. Con il 2,4-D i risultati sono meno univoci, ma non vi è una chiara dimostrazione della sua teratogenicità.

Triazine

I nuclei eterociclici dai quali derivano alcune importanti classi di erbicidi sono riportati nelle figure 10 e 11.

Un confronto con altri erbicidi dimostra che le triazine sono gli erbicidi a nucleo eterociclico più largamente impiegati in agricoltura (Tab. 14). L'atrazina può essere considerata come un tipico rappresentante di questa classe di fitofarmaci. L'azione erbicida delle triazine è dovuta ad una inibizione della fotosintesi. L'amtrole è un erbicida derivato dal nucleo triazolico, che è strutturalmente simile a quello delle triazine, ma che viene riportato nella figura 13 perché dà origine soprattutto a fungicidi. Nei mammiferi l'amtrole è un potente agente antitiroideo. Le analogie di struttura fra il triazolo e la triazina potrebbero suggerire un comune meccanismo d'azione nei mammiferi. In realtà in questi le triazine non hanno attività antitiroidea e pertanto il meccanismo della loro azione tossica è ancora sconosciuto.

La maggior parte delle triazine hanno una tossicità acuta molto bassa. Le loro DL_{50} sono quasi tutte superiori a 1.000 mg/kg. Per esempio, nel ratto per via orale la DL_{50} dell'atrazina è pari a 1.869-3.080 mg/kg; quella della simazine è superiore a 5.000 mg/kg.

Per via cutanea sono altrettanto poco tossiche. È molto bassa anche la tossicità cronica. I ratti sopravvivono ad un trattamento di 4 settimane con dosi di 2.500 mg/kg/die di simazine. Le pecore e i bovini sembrano essere però più

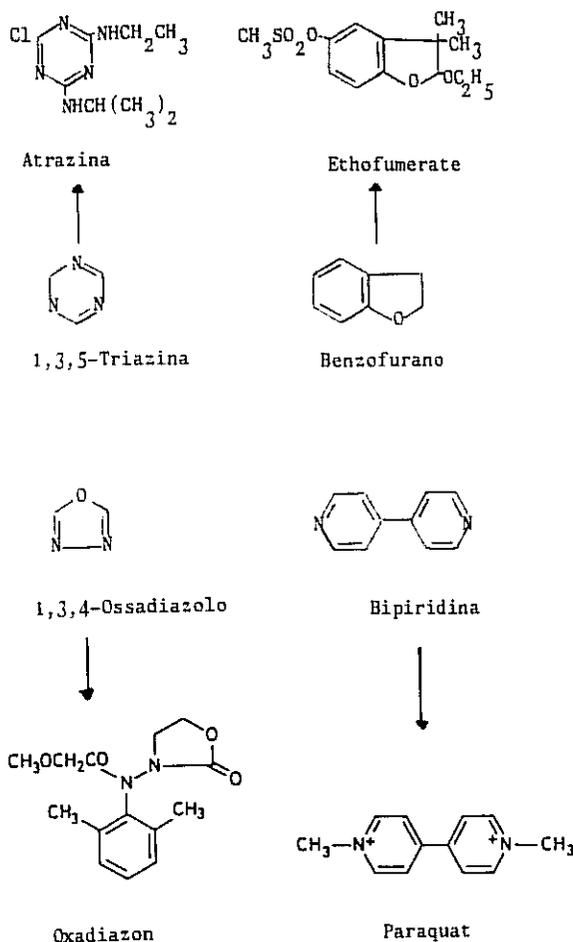


Figura 10 — Nuclei eterociclici capostipiti di serie di composti ad azione erbicida.

sensibili. Sia le pecore che i bovini non sopravvivono ad un trattamento di 3 giorni a dosi di 250 mg/kg/die.

Si è accennato all'effetto antitiroideo dell'amtrole. È interessante notare che questo erbicida nel topo e nel ratto ha per via orale DL_{50} che vanno da 1.100 a 25.000 mg/kg. D'altra parte, aggiunto alla dieta alla concentrazione di sole 2 ppm, provoca significativi effetti sulla funzione tiroidea. Il caso dell'amtrole può servire per illustrare un importante principio di tossicologia, e cioè la possibilità di incorrere in gravi errori nell'assumere la innocuità di una sostanza sulla base della sola tossicità acuta. L'effetto gozzigeno e la comparsa di tumori tiroidei hanno condotto alla proibizione dell'uso dell'amtrole come erbicida.

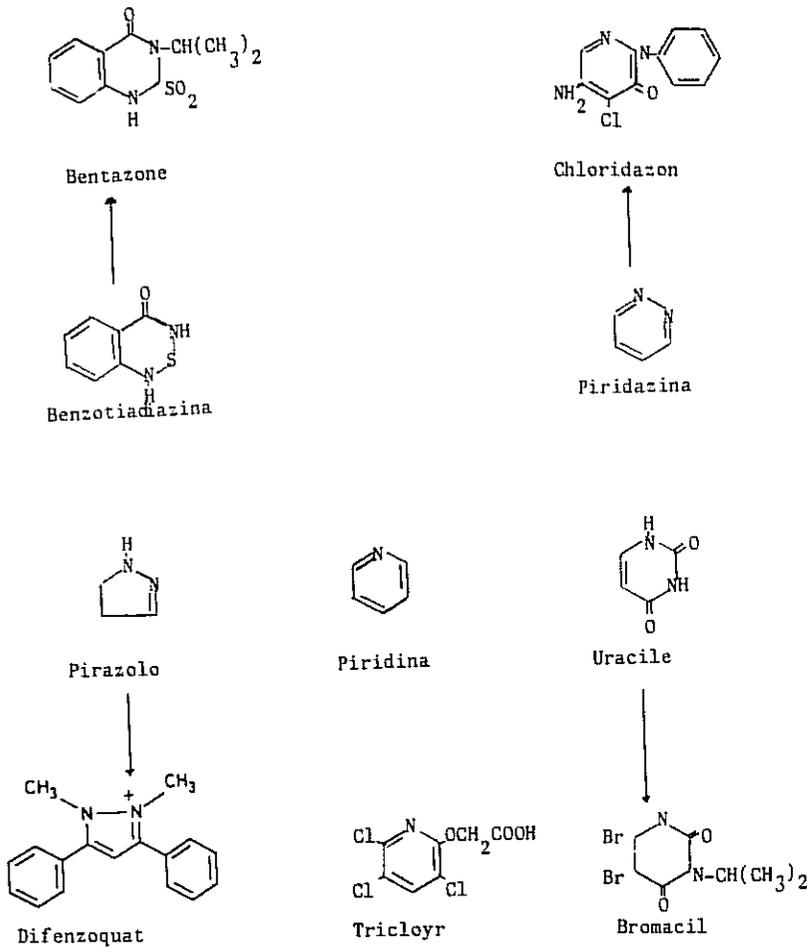


Figura 11 — Nuclei eterociclici capostipiti di serie di composti ad azione erbicida.

Derivati biperidilici

Il paraquat è il capostipite dei derivati della biperidina (Fig. 10). Accanto alle triazine e ai derivati biperidilici, vengono impiegati come erbicidi diversi altri composti derivati dai nuclei eterociclici riportati nelle figure 10 e 11. L'azione erbicida dei derivati del benzofurano e del pirazolo è dovuta ad una inibizione dei processi di divisione cellulare.

I derivati uracilici, piridazinici, benzotiadiazinici agiscono attraverso una inibizione della fotosintesi. I meccanismi delle loro azioni tossiche nei mammiferi sono ancora in gran parte sconosciuti. La piridina è strutturalmente correlata anche alla norbormide (Fig. 15) e alla nicotina (Fig. 16).

In questa sede ci si limita comunque ad un cenno riguardante solo i

Tabella 14 — Erbicidi maggiormente impiegati negli Stati Uniti nelle più importanti coltivazioni agricole del 1982.

Erbicida	Struttura chimica	Coltivazioni	Millioni di kg
Atrazine	triazina	granoturco	31,4
		sorgo	2,83
Cyanazine		granoturco	9,31
Metribuzin		soia	4,59
Prometryn		colone	0,45
Propazine		sorgo	0,58
Alachlor	acetanilide	granoturco	23,5
		soia	13,9
Metolachlor		granoturco	9,76
		soia	5,80
Propachlor		sorgo	0,90
		sorgo	1,93
2,4-D	fenossiacetato	granoturco	2,29
		sorgo	0,22
		frumento	4,54
MCPA		frumento	0,81
Butylate	tiocarbamato	granoturco	24,7
Triallate		frumento	1,08
Trifluralin	nitroanilina	soia	13,8
		colone	1,93
Totale			154,32

derivati bipiridilici, che sembrano quelli più interessanti da un punto di vista tossicologico.

Nel ratto il paraquat ha una DL_{50} per via orale di circa 125 mg/kg. Nella cavia, nel gatto e nella mucca le DL_{50} vanno da 30 a 50 mg/kg. L'uomo sembra essere più sensibile del ratto con una dose letale che viene stimata in 40 mg/kg, il che corrisponde per un adulto di 70 kg a circa 3 g. Secondo la tabella 8 il paraquat va considerato altamente tossico.

Il quadro dell'intossicazione acuta da paraquat nell'animale è caratterizzato inizialmente da ipereccitabilità e talora da convulsioni. Gli animali che muoiono nel giro di 1-2 giorni non mostrano alcuna altra alterazione. Quelli che muoiono dopo 2-5 giorni presentano un quadro polmonare di grave congestione con presenza di infiltrati infiammatori. Infine gli animali, che sopravvivono al primo stadio di edema polmonare, mostrano una evoluzione del quadro polmonare che porta ad una estesa fibrosi con insufficienza respiratoria. Questa può poi essere la causa della morte nel giro di 10 giorni.

Studi di tossicità cronica hanno dimostrato la comparsa di analoghi segni di fibrosi polmonare in ratti alimentati con una dieta contenente lo 0,03% di paraquat.

L'avvelenamento acuto da paraquat nell'uomo provoca la comparsa di simili alterazioni polmonari.

Il meccanismo dell'azione tossica nell'uomo e negli animali da laboratorio non è ancora chiarito. Un punto importante sembra però essere rappresentato dalla formazione di radicali liberi. Questi sarebbero il punto di partenza per una alterazione delle membrane cellulari. Il meccanismo dell'azione erbicida sarebbe analogamente basato sulla formazione di radicali liberi.

Il diquat è un altro derivato biperidilico che merita un cenno. Nel ratto per via orale ha una DL_{50} di 231 mg/kg. Il quadro della intossicazione acuta è però diverso da quello del paraquat. Infatti esso è caratterizzato dalla assenza di marcate alterazioni polmonari. Dosi orali vicine a quelle letali provocano ipereccitabilità, convulsioni e distensione del tubo gastroenterico. Esperienze di tossicità cronica della durata di circa 10 mesi con diete contenenti lo 0,05% di diquat hanno provocato la comparsa di cataratte oculari.

Dicarbossimidi

Il captan e il folpet sono tipici rappresentanti di una classe di composti che sono strutturalmente correlati al nucleo della ftalimide e che vengono impiegati come fungicidi. La loro tossicità acuta è molto bassa. Il captan ha nel ratto per via orale una DL_{50} di 9.000 mg/kg, quella del folpet è superiore a 10.000 mg/kg. Prove di tossicità cronica hanno dimostrato che sia il captan che il folpet non provocano alcun effetto tossico fino a dosi di 50 mg/kg/die per via orale.

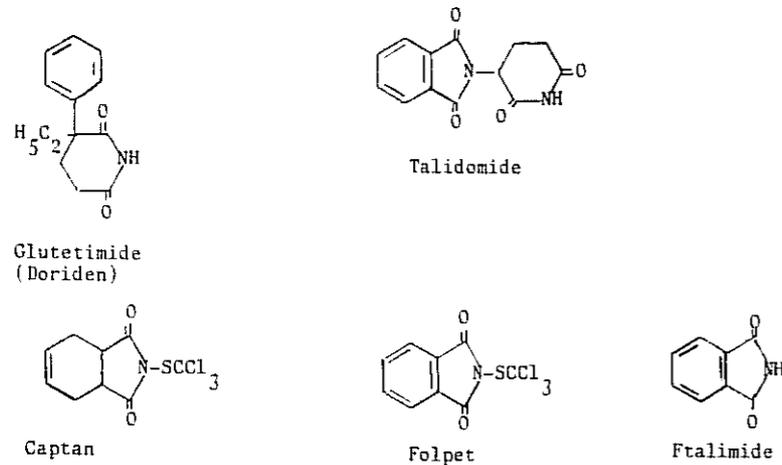


Figura 12 — Derivati della ftalimide.

La figura 12 dimostra tuttavia le analogie strutturali di questi fungicidi con la talidomide e la glutetimide. Si tratta di due sostanze che erano state sintetizzate e dimostrate efficaci come sedativo-ipnotici per l'uomo.

Nel giro di 1-2 anni la talidomide dimostrò tuttavia di essere un potente agente teratogeno per l'uomo stesso. L'assenza di questo effetto per la glute-timide fu messo in relazione con una diversa via di biotrasformazione. Ovviamente le analogie strutturali evidenziate nella figura 12 destarono sospetti circa eventuali effetti teratogeni anche da parte del captan e del folpet. Infatti il folpet si dimostrò teratogeno nel criceto alla dose di 500 mg/kg, quando questo veniva somministrato in 7° e 8° giornata di gravidanza. Il captan provocò la comparsa di malformazioni nei nati da coniglie trattate per os con 75 mg/kg/die dal 6° al 16° giorno di gestazione. Altre esperienze nel ratto, coniglio e criceto non hanno però confermato questi dati. Non si ha alcun dato circa i loro eventuali effetti teratogeni nell'uomo. A parte il meccanismo dell'azione teratogena, ovviamente riportabile a quello della talidomide, gli effetti tossici nei mammiferi vanno riferiti a meccanismi non ancora chiariti.

L'azione fungicida sembra dovuta al blocco di enzimi contenenti gruppi sulfidrilici.

Derivati del benzimidazolo

Accanto alle dicarbossimidi esistono numerosi altri derivati eterociclici dotati di attività fungicida. La figura 13 riporta le più importanti strutture di base. Dalla pirimidina e dalla chinolina derivano rispettivamente il bupirimate e il chinisol. Il triazolo e la morfolina sono capostipiti di classi di fungicidi cui appartengono rispettivamente il triazbutil e il dodemorph. Il tiadiazolo, l'oxatina e la piperazina sono alla base delle strutture rispettivamente dell'etridiazole, del carboxin e del triforine. Si trascura una discussione sui meccanismi dell'azione fungicida di questi composti, la cui tossicità nei mammiferi è dovuta a cause ancor in gran parte poco conosciute.

Qui si fa un cenno particolare soltanto dei derivati del benzimidazolo, quali il benomyl e il thiabendazole. Le loro strutture sono riportate nella figura 13. Non se ne conosce il meccanismo dell'azione tossica nei mammiferi. L'azione fungicida è dovuta ad una inibizione della mitosi cellulare.

La loro tossicità acuta è molto bassa. Il thiabendazole e il benomyl hanno nel ratto per via orale DL_{50} pari a 3.100 e a più di 10.000 mg/kg.

Le prove di tossicità cronica hanno evidenziato che il ratto tollera un trattamento di 6 mesi a dosi di 200 mg/kg/die di thiabendazole. Nel cane la tollerabilità è inferiore in quanto per queste dosi compare spesso vomito.

I derivati del benzimidazolo sono però sospettati di teratogenicità. Il benomyl, somministrato a ratte gravide durante i primi 20 giorni di gestazione, alle dosi di 125-500 mg/kg/die ha provocato la comparsa di malformazioni craniche e cerebrali nel 4,6% dei neonati. In altra esperienza nella stessa specie animale l'aggiunta di benomyl alla dieta in ragione di 500 ppm non ha invece provocato alcuna alterazione.

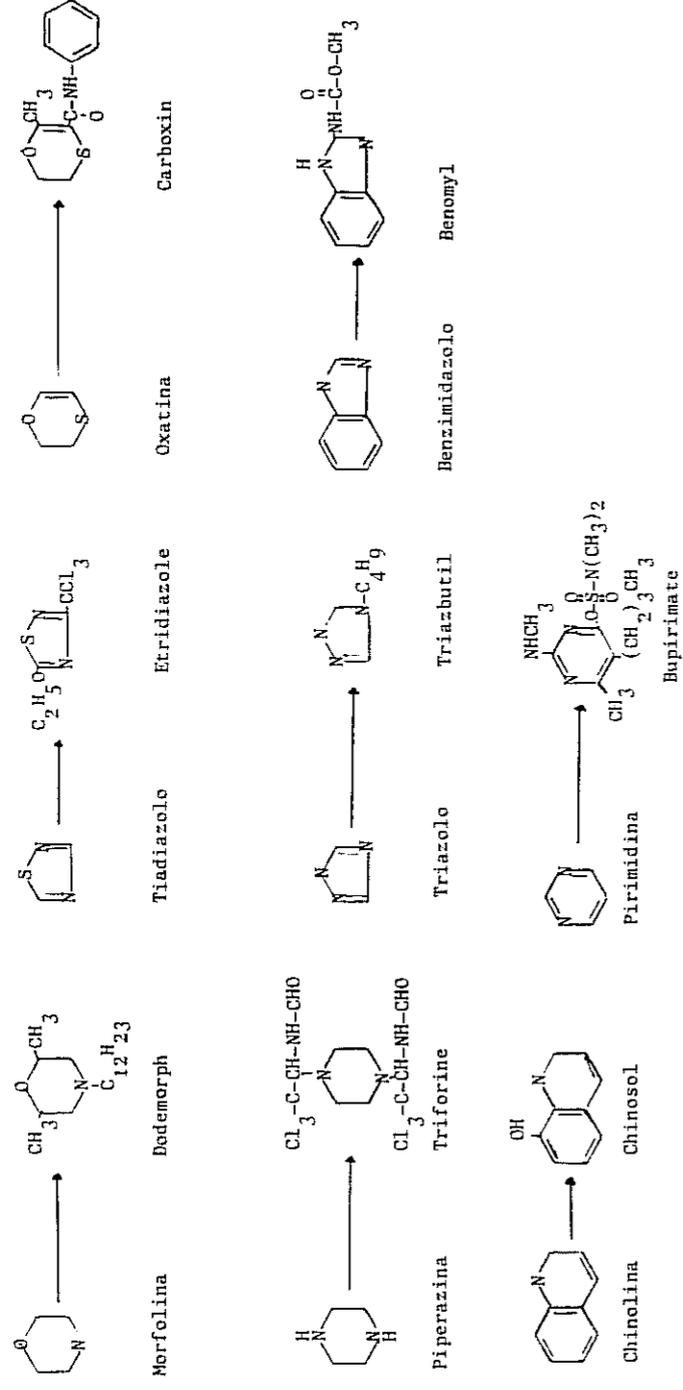


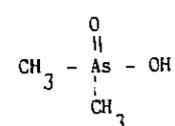
Figura 13 — Nuclei eterociclici capostipiti di serie di composti ad azione fungicida.

Derivati organici dell'arsenico e dello stagno

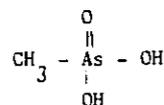
L'acido cacodilico o dimetilarsinico e l'acido metilarsonico sono derivati dell'arsenico che vengono usati come erbicidi (Fig. 14). La DL_{50} per via orale dell'acido metilarsonico è di 900 mg/kg, quella dell'acido dimetilarsinico è di circa 1.350 mg/kg. Si tratta pertanto di prodotti solo lievemente tossici. La causa dell'avvelenamento nei mammiferi è il blocco di gruppi sulfidrilici da parte dell'arsenico. L'intossicazione sia acuta che cronica è comunque del tutto simile a quella classica da arsenico. Si è già sottolineato come la maggior parte delle sostanze impiegate come insetticidi siano efficaci anche come acaricidi. Fra le poche sostanze che hanno una esclusiva azione acaricida merita un cenno il cyhexatin che è un derivato organico dello stagno (Fig. 14). Nel ratto per via orale la DL_{50} è di circa 540 mg/kg, che qualifica il prodotto come moderatamente tossico.

Fumiganti

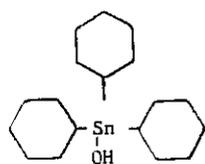
Con questo termine si intendono agenti chimici che vengono usati per la lotta a insetti, roditori e nematodi del terreno. Sono rappresentati da gas o da liquidi volatili, oppure ancora da solidi che liberano un gas al contatto con l'acqua. I più comuni sono il metilbromuro che è un gas, la fosfina che si libera da fosfuro di alluminio o dal fosfuro di magnesio a contatto con l'acqua, e l'etilene dibromuro che è un liquido volatile (Fig. 14).



Acido cacodilico



Acido metilarsonico



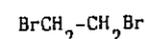
Cyhexatin



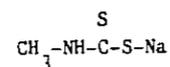
Metilbromuro



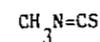
Fosfina



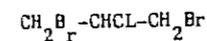
Etilene dibromuro



Metham-sodium



Methylisothiocyanate



1,2 dibromo-3 cloropropano

Figura 14 — Fumiganti e derivati organici dell'arsenico e dello stagno.

Metilbromuro, fosfina e etilene dibromuro sono tutti altamente tossici per l'uomo e gli animali domestici. Poiché si tratta di gas o di sostanze volatili la via di intossicazione è quella respiratoria. Nell'animale da laboratorio la sintomatologia della intossicazione da metilbromuro è caratterizzata da edema polmonare e convulsioni. La fosfina provoca edema polmonare cui si accompagnano infiltrazioni miocardiche con necrosi, nonché diffuse lesioni nei vasi. L'etilene dibromuro nell'animale da laboratorio provoca edema ed infiammazione polmonare.

Un analogo strutturale dell'etilene dibromuro è l'1,2-dibromo-3-cloropropano (DBCP) (Fig. 14). Questo prodotto è stato anch'esso impiegato come fungicida fino a circa 10 anni fa, quando il suo uso fu messo in relazione ad una inibizione della spermatogenesi nel personale maschile addetto alla sua preparazione. È interessante notare che lo stesso effetto era stato osservato nel ratto maschio ben 16 anni prima. Nonostante l'avvertimento sollevato da quella ricerca, in realtà non fu presa alcuna misura di protezione fin a quando il problema non comparve nell'uomo stesso. Oggi l'impiego del DBCP e dell'etilene dibromuro è drasticamente ridotto. Questo esempio serve per illustrare la utilità della sperimentazione biologica nell'animale da laboratorio e la necessità di tenerne sempre conto.

Altri fumiganti, le cui strutture sono riportate nella figura 14, sono il metham-sodium e il methylisothiocyanate. Il primo agisce da fungicida, nematodocida e erbicida, in quanto nel terreno si decompone a methylisothiocyanate, che è il principio attivo.

Rodenticidi

La stretta specificità d'azione da un lato, ma l'eterogeneità delle strutture chimiche dall'altro, inducono a trattare insieme i prodotti ad attività rodenticida.

Alcuni preparati usati per uccidere topi e ratti sono ormai noti da secoli. È questo il caso della noce vomica e della scilla rossa. Altri sono di introduzione molto più recente.

Warfarin. È un antagonista della vitamina K che nell'uomo e nei roditori blocca la sintesi della protrombina. Ne consegue un effetto anticoagulante che provoca gravi emorragie, causa della morte dell'animale. È necessario somministrare più dosi si da provocare una deplezione di protrombina tale da causare a sua volta emorragie mortali. La struttura è riportata nella figura 15.

La cumarina è il composto di origine vegetale che ha dato il via alla serie dei cosiddetti anticoagulanti orali, usati anche in terapia umana. Il warfarin nei comuni animali da laboratorio ha una DL_{50} per via orale che va da 200 a 400 mg/kg. Un adulto dovrebbe ingerire quasi 1 kg di prodotto commerciale per averne un effetto letale.

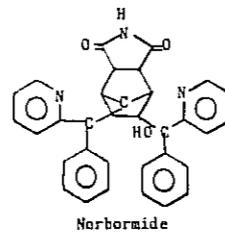
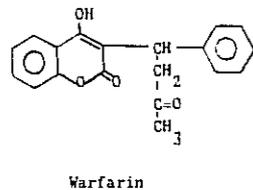
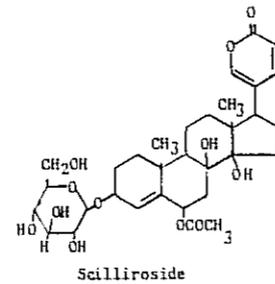
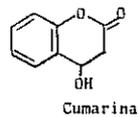
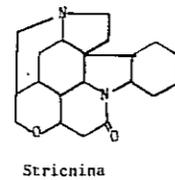
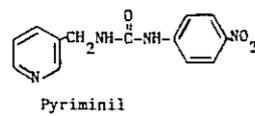
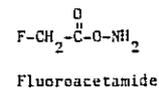
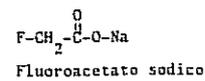


Figura 15 — Rodenticidi.

Scilla rossa. Il bulbo della *Urginea maritima*, detta scilla rossa, contiene glicosidi cardiocinetici con azioni del tutto analoghe a quelle dei glicosidi digitalici usati in terapia umana per il trattamento dello scompenso cardiaco. Fra gli altri vi è contenuto lo scilliroside (Fig. 15), che è considerato il responsabile dell'azione tossica. Nell'uomo i glicosidi cardiocinetici provocano anche vomito per cui questo tende a svuotare lo stomaco. L'assenza di questo riflesso nei roditori fa sì invece che questi ne ingeriscono dosi fatali. La morte è dovuta ad effetti tossici sul cuore.

Il principio attivo della scilla rossa ha nel ratto una DL_{50} molto bassa, pari a circa 0,7 mg/kg ed è una dimostrazione della possibile altissima tossicità di prodotti di origine naturale. L'effetto emetico ne spiega la relativa scarsa tossicità per l'uomo e gli animali domestici che posseggono il riflesso del vomito.

Norbormide. È un derivato piridinico a struttura complessa (Fig. 15). Esso deve la sua tossicità nel ratto al fatto che in questo animale provoca una vasocostrizione generalizzata e persistente. Il risultato è la morte come conse-

guenza di un insufficiente apporto di sangue ai vari tessuti ed organi. Poiché è relativamente poco tossico per altri animali e per l'uomo se ne deve dedurre che solo il ratto possiede recettori specifici per questa sostanza. Una dose di 5-15 mg/kg, che è letale nel ratto, è invece essenzialmente priva di effetti tossici per gli animali domestici e per l'uomo.

Fluoroacetato sodico e fluoroacetamide. Si tratta di composti fra i più potenti come rodenticidi ed anche molto tossici per gli altri animali. Il loro uso è permesso soltanto a personale con adeguata preparazione. Il principio attivo è il fluoroacetato. La fluoroacetamide svolge l'effetto tossico soltanto dopo essersi stata biotrasformata nell'organismo animale. Il meccanismo d'azione consiste nel blocco del ciclo dell'acido citrico con conseguente inibizione del metabolismo ossidativo in tutti i tessuti. La DL_{50} nel ratto per via orale del fluoroacetato e della fluoroacetamide è di 0,20 e 4-15 mg/kg rispettivamente. La dose letale nell'uomo è stimata intorno ai 2-10 mg/kg.

α -Naftiltiourea. La struttura è riportata nella figura 4 che ne evidenzia i rapporti con l'urea. È dotata di un elevato margine di sicurezza. Infatti l' α -naftiltiourea ha nel ratto per via orale una DL_{50} pari a circa 3 mg/kg. Nel cane la si reputa intorno ai 10 mg/kg. I dati ottenuti in scimmie indicherebbero una DL_{50} intorno ai 4 g/kg. Nell'uomo la tossicità della α -naftiltiourea è molto più bassa che nel ratto e sembra simile a quella osservata nelle scimmie.

Noce vomica e stricnina. La noce vomica è costituita dai semi della *Strychnos nux vomica*. Il principio attivo ne è la strictina (Fig. 15), che è un potente veleno convulsivante.

La stricnina nella maggior parte degli animali, ivi compreso l'uomo, ha per via orale una DL_{50} che si aggira sui 2-5 mg/kg.

Pyriminil. È un rodenticida piuttosto recente (Fig. 15). È stato studiato per la lotta contro i ratti diventati resistenti al warfarin. Interferisce con il metabolismo della nicotinamide. La morte interviene per paralisi e arresto respiratorio.

Il pyriminil ha per via orale nel ratto una DL_{50} di 5 mg/kg. Nel cane e nel pollame la DL_{50} è invece superiore a 500 mg/kg. Il pyriminil distrugge anche le cellule β del pancreas creando uno stato di diabete. Infatti nell'uomo una dose di circa 5 mg/kg può causare la comparsa di un diabete che deve essere trattato con insulina per varie settimane o mesi.

Fosforo di zinco. È un veleno molto potente sia per ratti e topi che per l'uomo e gli animali domestici. L'impiego è limitato a personale specializzato. Gli effetti tossici sono dovuti al gas fosfina, PH_3 , che si libera quando il prodotto reagisce con l'acqua e l'HCl del contenuto gastrico. Una certa minore sensibilità dei cani e dei gatti sembra dovuta agli effetti emetici dello zinco. Il fosforo di zinco ha una DL_{50} nel ratto per os pari a 45,7 mg/kg. Al pari di altri rodenticidi inorganici, come il fosfato di tallio, è sempre meno impiegato a causa della elevata tossicità anche per l'uomo ed altri animali. Il fosfato di tallio (STI_2O_4) ha nel ratto per os una DL_{50} di 25 mg/kg.

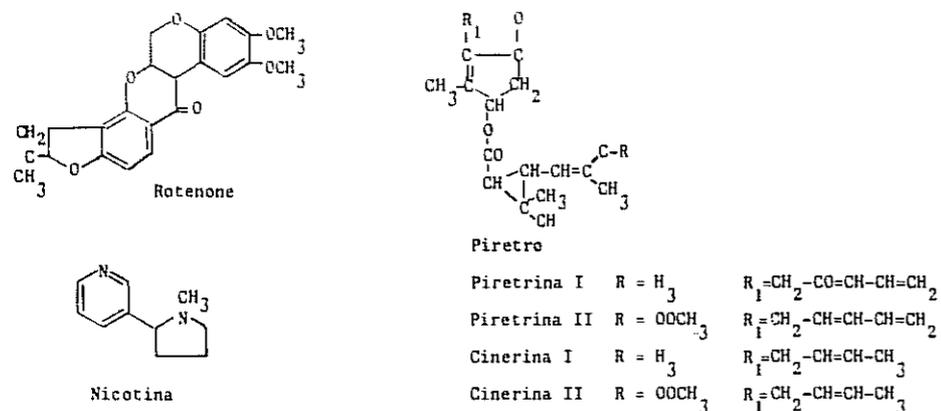


Figura 16 — Insetticidi di origine vegetale.

Insetticidi di origine vegetale

In questo gruppo si annoverano alcuni fra i più antichi insetticidi. Popolazioni primitive usavano estratti della *Derris elliptica* per paralizzare la vescica natatoria dei pesci. Le strutture chimiche che li caratterizzano e i meccanismi d'azione sono molto diversi fra di loro (Fig. 16).

La nicotina stimola i recettori della acetilcolina a livello dei gangli autonomi, delle giunzioni neuromuscolari e in alcune parti del sistema nervoso centrale. A questo meccanismo si deve sia l'azione insetticida che la tossicità nei mammiferi. Il rotenone, che è il principio attivo della *Derris elliptica*, agisce inibendo la ossidazione del NAD ridotto nei tessuti sia degli insetti che dei mammiferi. I principi attivi del piretro, che è costituito dai fiori del *Chrysanthemum cinerariaefolium*, sono le cosiddette piretrine e cinerine. Più di recente si sono ottenuti dei piretroidi di sintesi che hanno una maggiore specificità d'azione. Il meccanismo d'azione sembra consistere in una alterazione degli scambi di Na a livello delle fibre nervose, analogamente a quanto provocato dai derivati organoclorurati.

Gli insetticidi di origine botanica dimostrano che non è affatto vero che i prodotti naturali sono meno tossici di quelli sintetici.

Nel ratto la nicotina ha una DL₅₀ di 10-60 mg/kg, il rotenone e le piretrine di 100-300 mg/kg, e quindi paragonabili a quelle degli insetticidi sintetici più tossici o moderatamente tossici. Una dose DL₅₀ di 300 mg/kg per il rotenone corrisponde per un adulto di 70 kg ad una dose di 21 g che è infatti nell'ambito di quelle fatali per l'uomo alla dose di 2 cucchiaini. Le piretrine hanno comunque un elevato margine di sicurezza. Se si considera il rapporto fra la DL₅₀ nel ratto e quella nella locusta del deserto si ha un valore di 1.400,

mentre per il parathion questo è di solo 11, per il malathion di 45 e per il carbaryl di 17.

Nella tabella 15 è infine riassunta una classificazione dei più importanti antiparassitari.

Tabella 15 — Principali antiparassitari.

Classe	Struttura	Classe	Struttura
Insetticidi (acaricidi)	organofosforici carbamati organoclorurati uree aniline piretro nicotina rotenoidi	Fungicidi	ditiocarbamati aniline benzenici fenoli benzimidazoli dicarbossimidi
		Fumiganti	metilbromuro fosfina etilendibromuro
Erbicidi	fenoli clorofenossia- cetici dinitrofenoli bipiridilici carbamati uree triazine aniline benzenici nitrili ac. arilalifatici arsenicali	Rodenticidi	warfarin scilla rossa norbormide fluoroacetamide α -naltitliourea noce vomica pyriminil zinco fosfuro
		Nematocidi	organofosforici carbamati fumiganti
		Molluschicidi	carbamati
		Acaricidi	cyhexatin

Conclusioni

Per moltissimi aspetti le metodiche di indagine tossicologica, oggi a nostra disposizione, sono sufficienti per dare precise informazioni circa i rischi connessi con l'impiego dei fitofarmaci. Infatti una previsione sugli effetti tossici acuti, conseguenti ad un'unica ingestione di un certo prodotto è abbastanza facile. Una bassa DL_{50} nell'animale da laboratorio significa sempre una elevata tossicità anche nell'uomo. La esposizione a basse dosi per lunghi periodi di tempo può dar luogo ad effetti tossici cronici. Tuttavia lunghi periodi di somministrazione a più di una specie animale sono in grado di fornire dati trasferibili all'uomo e quindi di escludere sorprese di una qualche gravità al momento dell'impiego del prodotto in esame. Per quanto concerne le indagini di teratogenesi esistono importanti differenze fra l'uomo e gli animali da laboratorio, e, nell'ambito di questi, fra di loro. È noto il caso della talidomide che è teratogena nell'uomo e nel coniglio, ma non nel ratto. Tuttavia l'impiego di più

di una specie animale può dare sufficienti garanzie di ottenere dati validi anche per l'uomo.

I risultati di uno studio tossicocinetico sono quelli che più spesso evidenziano differenze fra l'uomo e gli animali da laboratorio. È soprattutto vero per quanto concerne le caratteristiche dei metaboliti, che si vengono a rendere disponibili come conseguenza dei processi di biotrasformazione.

La cancerogenicità di un prodotto è spesso legata alla formazione di un dato metabolita e pertanto le conoscenze di tossicocinetica sono un prerequisito fondamentale per uno studio genotossico.

Non si vuole qui trattare il problema della cancerogenesi per il quale si rimanda ad altra sede. Si accenna soltanto al fatto che qui la valutazione è più difficile, perché è noto il caso di cancerogeni per i quali non è stato possibile determinare la dose e la durata di esposizione al di sotto delle quali non compare alcun effetto.

In conclusione, a parte il problema ancora poco chiaro della carcinogenicità da dosi molto basse somministrate per lunghi periodi di tempo, le attuali metodiche tossicologiche sono in grado di fornire una sufficiente difesa della salute dell'uomo, degli animali, nonché dell'ambiente. Si tratta ovviamente di avere i mezzi e la volontà per operare un severo controllo. Questo deve essere basato su una rete di struttura in grado di operare analisi in modo efficiente, capillare e costante nel tempo. Il controllo va esercitato a tutti i livelli operativi interessati agli antiparassitari, e cioè dalla loro produzione industriale, all'impiego in agricoltura o in altre attività, e fino ai vari stadi della commercializzazione dei prodotti agricoli.

BIBLIOGRAFIA

- BRUSICK, D., 1987. Principles of Genetic Toxicology . Plenum Press, New York e Londra.
- CLAYTON, G.D., CLAYTON, F.E. (Ed.), 1981. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. John Wiley & Sons, New York.
- COSTA, L.G., GALLI, C.L., MURPHY, S.D. (Ed.), 1987. Toxicology of Pesticides: Experimental, Clinical and Regulatory Perspectives. Plenum Press, New York.
- CROSBY, D.G., 1982. In: Genetic Toxicology: An Agricultural Perspective. R.A. Fleck e A. Hollaender (Ed.), Plenum Press, New York e Londra.
- FABRO, S., SCILLI, A.R., 1986. Drug and Chemical Action in Pregnamcy. Marcel Dekker Inc., New York.
- FOSCHI, S., BRUNELLI, A., PONTI, I., 1985. Terapia Vegetale. Edagricole Bologna.
- FOSCHI, F., ZOCCA, C., 1987. Terra e Vita, 28, 38.
- GELOSI, A., 1983. Fitofarmaci. Edagricole, Bologna.
- GOLDSTEIN, A., ARONOW, L., KALMAN, S.M., 1974. Principles of Drug Actions: The Basis of

- Pharmacology. John Wiley & Sons, New York.
- HAYES, A.W., 1982. Principles and Methods of Toxicology. Raven Press, New York.
- HOMBURGER, F., GOLDBERG, A.M. (Ed.), 1985. In Vitro Embryotoxicity and Teratogenicity Tests. Karger, Basel.
- HOMBURGER F., HAYES, J.A., PELICAN, W., (Ed.), 1983. A Guide to General Toxicology. Karger, Basel.
- KLAASSEN, C.D., AMDUR, M.O., DOULL, J. (Ed.), 1986. Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons. Mac Millan Publishing Company, New York.
- LEVINE, R.R., 1986. Principi di Farmacologia Generale. E.M.S.I., Roma.
- LI, A.P. (Ed.), 1985. Toxicity Testing: New Approaches and Applications in Human Risk Assessment. Raven Press, New York.
- MARQUIS, J.K., 1986. Contemporary Issues in Pesticide Toxicology and Pharmacology. Karger, Basel.
- MITCHELL, J.R., HORNING, M.G., 1984. Drug Metabolism and Drug Toxicity. Raven Press, New York.
- NIOSH, 1981-1982, 1983-1984. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, L. Lewis and D.V. Sweet (Ed.), 1981-1982 Edition and 1983-1984 Cumulative Supplement.
- PAOLINI, M., CORSI, C., BAUER, C., NIERI, R., DEL CARRATORE, R., VANNUCHI, C., BRONZETTI, G., 1987. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38, 899.
- ROZMAN, K., HANNINEN, D. (Ed.), 1986. Gastrointestinal Toxicology, Elsevier, Amsterdam.
- SALSBURY, D.S., 1986. Statistics for Toxicologists. Marcel Dekker Inc., New York e Basilea.
- ZBINDEN, G., GROSS, F. (Ed.), 1979. Pharmacological Methods in Toxicology. Pergamon Press, Oxford.
- WORTHING, C.R. (Ed.), 1987. The Pesticide Manual. The British Crop Protection Council.