

# Un approccio metabolomico non mirato per indagare l'esposizione a sostanze tossiche nel fumo di sigaretta

G. Frigerio<sup>1</sup>, R. Mercadante<sup>1</sup>, L. Campo<sup>1</sup>, E. Polledri<sup>1</sup>, L. Olgiati<sup>1</sup>, P. Missineo<sup>1</sup>, L. Boniardi<sup>1</sup>, W.J. Nash<sup>2</sup>, W.B. Dunn<sup>2</sup>, S. Fustinoni<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*EPIGET - Laboratorio di Epidemiologia, Epigenetica e Tossicologia, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano, Via San Barnaba 8, 20122 Milano*

<sup>2</sup>*School of Biosciences, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham, B15 2TT, UK.*

**Introduzione:** Nel fumo di sigaretta sono state identificate migliaia di diverse sostanze chimiche pericolose; ciò nonostante la caratterizzazione dei metaboliti urinari di queste sostanze a seguito di esposizione nell'uomo è stata effettuata solo parzialmente.

**Obiettivo:** Lo studio si propone di applicare un approccio metabolomico non mirato all'analisi di campioni di urina di soggetti con diversa abitudine al fumo, allo scopo di identificare i metaboliti derivanti da sostanze tossiche associate.

**Metodi:** Sono stati raccolti campioni estemporanei di urina da 67 soggetti suddivisi in tre gruppi sulla base della loro abitudine al fumo: 38 soggetti erano non fumatori, 7 erano fumatori di sigaretta elettronica e 22 erano fumatori di tabacco.

I campioni sono stati analizzati utilizzando la cromatografia liquida accoppiata ad uno spettrometro di massa con tempo di volo, raccogliendo i segnali degli ioni negativi. I dati sono stati processati utilizzando i pacchetti R IPA e MXCMS per correggere i tempi di ritenzione ed effettuare l'allineamento tra i cromatogrammi. Il test ANOVA è stato utilizzato per identificare gli elementi caratteristici che distinguono tra loro i gruppi. Il software BEAMS, sviluppato dall'università di Birmingham, è stato applicato per raggruppare gli addotti e gli isotopi riferiti ad una stessa sostanza ed effettuare una prima annotazione dei picchi. L'annotazione è stata completata confrontando gli spettri di frammentazione ottenuti da standard puri e con il database Metlin, usando il software MS-FINDER

**Risultati:** Nei cromatogrammi ottenuti sono stati identificati complessivamente 3613 segnali, di cui 117 sono risultati diversi nei gruppi studiati. Questi segnali sono stati attribuiti a circa 80 diversi metaboliti, dei quali siamo riusciti ad annotarne putativamente circa la metà.

L'identificazione, con un grado di confidenza pari a 1, degli acidi mercapturici dell'acroleina, del 1,3-butadiene, e della crotonaldeide, sostanze risaputamente presenti nel fumo di tabacco, supportano la validità dell'approccio adottato (il grado di confidenza 1 si attribuisce alle molecole identificate con certezza per confronto con lo standard puro). Con un grado di confidenza minore (pari a 2) sono state identificate: il coniugato glucuronide della 3-idrossicotinina e il coniugato solfato del metossifenolo. Infine, con un grado di confidenza 3, sono state identificate numerose altre piccole molecole, escrete come coniugati solfati.

**Conclusioni:** L'approccio proposto sembra utile per indagare l'esposizione a miscele di sostanze tossiche nell'uomo. Dato che l'esposizione a miscele di sostanze chimiche, piuttosto che a singoli composti, è una caratteristica peculiare di molti ambienti di lavoro, si reputa che questo approccio apra interessanti prospettive per la medicina del lavoro.