



Regione Lombardia

Sanità



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Istituto di Anatomia Patologica
Centro di Ricerca "Lino Rossi"
per lo studio e la prevenzione della morte
inaspettata perinatale e della SIDS



Sculptura romana commemorativa di una vittima di morte in culla. 250 d.C. Museo di Capriolo, Gergnomo

Atti del Convegno

Morte improvvisa del lattante e morte inaspettata del feto

La rilevanza giuridica e medico-sociale
della ricerca scientifica: la legge 31 del 2006

Con l'Alto Patrocinio del Presidente della Repubblica

18-20 maggio 2006 - Gargnano del Garda (BS)



Regione Lombardia

La determinazione di nicotina e cotinina nei capelli di bambini esposti al fumo di sigaretta

F. LODI, M. CALIGARA

Riassunto

Il rilievo quali-quantitativo della nicotina e del suo metabolita cotinina nei capelli dei bambini rappresenta il sistema più efficace per valutare il grado di esposizione al fumo di tabacco. Alla luce delle personali esperienze e competenze, gli autori espongono le caratteristiche chimico-fisiche della matrice pilifera, i meccanismi d'incorporazione degli xenobiotici e le modalità di prelievo per l'esecuzione delle analisi. Dopo un'attenta revisione della letteratura sull'argomento, vengono illustrati i risultati di studi effettuati sia sui capelli di neonati in comparazione con quelli delle rispettive madri, sia su quelli di bambini esposti all'ETS (environmental tobacco smoke), detto anche "fumo di seconda mano".

Parole chiave: neonati, feti, nicotina, cotinina, capelli, fumo, tabacco

Introduzione

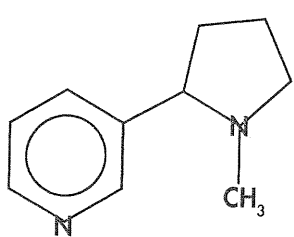
Il tabacco insieme all'alcool rappresenta la più popolare sostanza d'abuso legalmente utilizzata nell'attuale società occidentale e gli effetti negativi del fumo sulla salute umana sono ampiamente documentati. È anche dimostrato che il fumo durante la gravidanza può compromettere la salute fetale; infatti, ad esso è associato un più alto rischio di aborti spontanei, parti prematuri, ritardata crescita intrauterina, elevata mortalità perinatale, SIDS e ritardi nello sviluppo cognitivo e neurologico del bambino. In particolare, per quanto riguarda la SIDS, è stato osservato che questa sindrome è due volte più frequente negli infanti esposti al fumo di sigaretta durante la vita intrauterina e tre volte più frequente negli infanti esposti sia nel periodo pre-natale, sia in quello post-natale (Schoendorf e Keily, 1992).

Il fumo di tabacco è una complessa miscela di oltre 4000 composti chimici alcuni dei quali si generano durante la combustione dei costituenti il tabacco; molti di questi sono sostanze irritanti ed intossicanti in grado di produrre effetti acuti sulla salute umana. Non tutti sono stati identificati e tra quelli noti vi sono la nicotina, l'acido cianidrico, il monossido di carbonio, l'acetaldeide, la formaldeide, l'ammoniaca, le nitrosoamine, gli idrocarburi aromatici policiclici.

Il tabacco è costituito dalle foglie essiccate della *Nicotiana Tabacum* (o di altre specie come la *Silvestris*), famiglia delle Solanacee ed il principio attivo è la nicotina,

chimicamente (3-[(2S)-1-metil-2-pirrolidin] piridina, di formula C₁₀H₁₄N₂ e peso molecolare 162,2; la molecola ha un centro chirale e la forma presente in natura è quella levogira [S(-)].

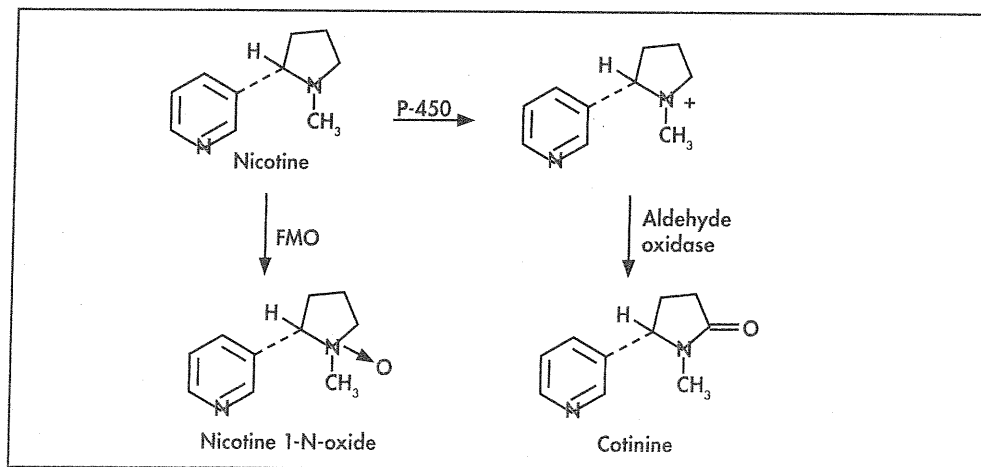
La nicotina è un liquido molto igroscopico, incolore o giallo pallido che gradualmente imbrunisce a contatto con l'aria ed è termolabile.

	Proprietà chimico-fisiche	
	Densità (g·cm ⁻³ , in c.n.)	1,01
	Temperatura di fusione	79°C
	Temperatura di ebollizione	247°C
	Costante di dissociazione basica a 20°C	$\sim 7 \times 10^{-7}$

Viene rapidamente assorbita attraverso le mucose orali, nel tratto respiratorio ed anche attraverso la cute; la distribuzione ai tessuti è altrettanto rapida. Ha un basso volume di distribuzione (1-3 L/Kg); essendo scarso il legame (5%) con le proteine plasmatiche si ha il rapido attraversamento delle barriere emato-encefalica e placentare.

Il metabolismo è epatico ed avviene mediante un'ossidazione che vede coinvolto il citocromo P450 - isoforma CYP2A6 - con formazione di cotinina e nicotina 1-N-ossido, cui seguono ulteriori degradazioni che portano alla formazione di idrossicotinina, norcotinina ed infine alla rottura dell'anello. Solo il 5% della dose assorbita viene eliminata nelle 24 ore in forma immodificata con le urine, il 10% come cotinina.

Dopo inalazione l'emivita plasmatica della nicotina è compresa tra 0,5 e 2 ore, mentre quella del metabolita va da un minimo di 6 ore ad un massimo di 16 ore.



Primary Pathways of Nicotine Metabolism.

La nicotina è uno dei più potenti veleni naturali e negli avvelenamenti acuti (assunzione di 40-60 mg) la morte sopraggiunge rapidamente in pochissimi minuti a seguito della paralisi dei muscoli respiratori. Ormai è abbandonato il suo utilizzo come insetticida e le possibilità di esposizione degli organismi viventi sono relegate al fumo di tabacco, la cui dispersione, particolarmente in ambienti chiusi, rende universale il rischio sulla salute umana per il ruolo riconosciutogli nell'insorgenza di patologie a carico dei sistemi respiratorio, cardiovascolare, immunitario.

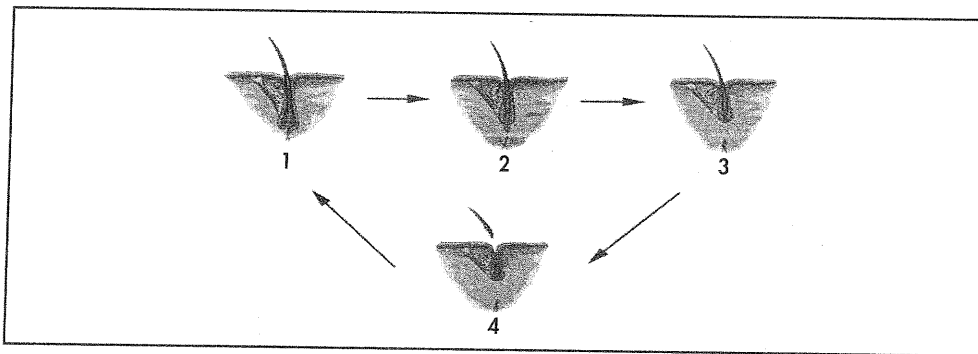
La contaminazione da fumo si realizza in maggior misura in presenza di fumo attivo, sia esalato dal fumatore, sia prodotto dalla combustione del tabacco ed anche in assenza di esso. Infatti, i componenti del fumo di tabacco, compresi i particolati, si depositano su tutte le superfici dell'ambiente, sugli abiti, sui mobili, sulle suppellettili e vengono anche assorbiti dai muri in un tempo compreso tra 10 minuti ed alcune ore. Da questi vengono poi riemessi nell'aria ambientale in un ciclo continuo che può durare anche alcuni mesi, prolungando la durata dell'esposizione passiva. A questo fenomeno, definito dagli anglosassoni come ETS (acronimo di environmental tobacco smoke) od anche "*fumo di seconda mano*", sono particolarmente sottoposti i bambini in tenera età e soprattutto quelli di età inferiore all'anno che soggiornano molte ore nelle loro abitazioni; la contaminazione si realizza non solo per inalazione, ma anche per ingestione vista l'elevata frequenza di questi bambini di stare a contatto con i pavimenti e di portarsi le mani alla bocca. Il grado di contaminazione è maggiore se i genitori, ed in particolare la madre con la quale hanno maggiori contatti, sono fumatori.

L'evidenza della contaminazione e l'entità dell'esposizione possono essere ottenute esaminando le matrici biologiche dei soggetti esposti e ricercando in essi la nicotina e/o il suo metabolita principale, la cotinina, ai quali è stato attribuito il ruolo di indicatori biologici dell'ETS. Ogni matrice biologica è dimostrativa di particolari modalità di esposizione: la presenza della nicotina/cotinina nel sangue e nell'urina riflette solo un'esposizione recente, mentre dal riscontro di queste sostanze nei capelli è possibile verificare l'esposizione a lungo termine, l'entità dell'accumulo e stabilire anche i limiti cronologici.

Il pelo si compone grossolanamente di 2 sezioni: una esterna, visibile (il fusto) ed una nascosta, la radice; questa è inserita in un'invaginazione dell'epidermide, il follicolo, che nella sua parte inferiore si rigonfia formando il bulbo pilifero, il cui diametro varia da 15 a 20 micron. A livello del follicolo sboccano una o più ghiandole sebacee e, a seconda delle zone corporee anche ghiandole sudoripare apocrine, ed è circondato da vasi sanguigni e terminazioni nervose. L'epitelio della papilla connettivale del bulbo pilifero è formato da cellule in attiva proliferazione che danno origine al pelo. Gli

elementi costituenti il pelo sono in senso radiale dall'interno all'esterno: il midollo (poco corneificato); la corteccia nella quale sono localizzati i granuli di melanina, dalla quale dipende il colore; la cuticola costituita da microfibrille strettamente impaccate e contenenti cheratina.

Il follicolo pilifero non cresce con regolare continuità, ma attraverso una serie di fasi delle quali le principali sono la anagen, la catagen e la telogen.



Rappresentazione del ciclo vitale dei peli.

1. *Anagen* o fase di accrescimento: è la fase durante la quale il pelo cresce all'incirca di 1 cm/mese;
2. *Catagen* o fase involutiva: il follicolo non produce più il pelo, la divisione cellulare s'interrompe ed il follicolo si restringe verso la superficie (3);
4. *Telogen* o fase di quiescenza: è lo stadio di riposo al termine del quale il pelo cade; la sua durata varia in relazione alle diverse sedi corporee: 3-4 mesi per i capelli e fino a 2 anni per gli altri peli. Per stimoli ancora non definiti la radice riprende il suo ciclo in *anagen*.

La durata della fase anagen varia in relazione al sesso ed influisce sulla lunghezza del pelo; quella dei capelli è compresa tra 2 ed 8 anni, quella massima è stabilita per la donna e questo è il motivo per cui i capelli delle donne raggiungono lunghezze maggiori rispetto a quelle degli uomini. La fase più corta è quella delle sopracciglia che dura circa 2-3 mesi.

A seconda delle sedi corporee varia la percentuale di peli in una delle fasi del loro ciclo; a livello del cuoio capelluto nella zona del vertice superiore tra l'80 ed il 95% dei capelli è in fase anagen, la restante in telogen. Per i peli del tronco la percentuale dei peli in fase telogen raggiunge il 40-50%. La durata delle fasi è influenzata sia da stimoli esterni, come le ore di luce (in estate la crescita dei capelli è più rapida), sia da fattori di natura ormonale. La caduta dei capelli è più abbondante nel mese di novembre e meno in primavera. La velocità di crescita è stimata in 1 cm/mese con

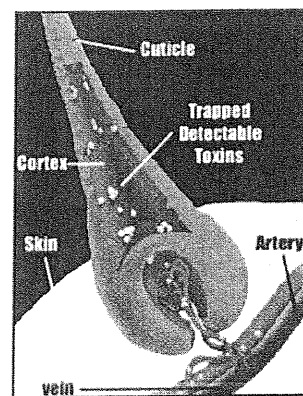
variazioni di $\pm 0,3$ cm con significative differenze legate al sesso, alla razza, all'età ed alla variabilità individuale.

I peli umani sono classificabili in 3 tipi (lanugo, vellus e terminali) con caratteristiche molto diverse ed il cui sviluppo si completa od inizia già durante la vita intrauterina. Il primo tipo di pelo è il *lanugo* che esiste solo in utero; esso si produce dopo lo sviluppo del follicolo e la sua crescita comincia alla 20^a settimana di vita intrauterina e dura fino alla 32^a-36^a settimana. È molto sottile, lungo, generalmente non pigmentato e viene chiamato *pelo primario o primitivo*. Il secondo tipo di pelo è il *vellus* che si sviluppa, alla caduta del pelo lanugo, su tutta la superficie corporea, ad eccezione delle zone palmari e plantari e di quelle che posseggono radici di tipo terminale. È anch'esso sottile, ma corto (non supera il cm) e contiene poco o nessun pigmento. Dopo la caduta del pelo lanugo in utero, il cuoio capelluto, le sopracciglia e le ciglia sviluppano un tipo di pelo "midollato", più ruvido, pigmentato e relativamente più lungo, che viene definito *pelo terminale primitivo*; a livello del cranio questo pelo costituisce il capello. I peli terminali secondari si sviluppano successivamente nella pubertà per lo stimolo degli androgeni dei testicoli nel maschio e delle ovaie e delle ghiandole surrenali nella femmina e sostituiscono definitivamente il pelo vellus.

Dal punto di vista chimico, il pelo è una struttura molto complessa, costituita da proteine fibrose, alfa e beta cheratina, lipidi, melanina (polimero formato da unità indolchinoniche) e gli xenobiotici, con i quali l'organismo umano viene in contatto, possono legarsi a questi componenti con deboli interazioni elettrostatiche, legami idrofobici e ionici. Il legame si realizza prevalentemente con il contributo delle proteine, della melanina e dei lipidi attraverso meccanismi specifici e non specifici.

Il meccanismo di incorporazione più accreditato prevede che le molecole diffondano dal flusso sanguigno alle cellule in rapido accrescimento del bulbo pilifero e vengano "intrappolate" al loro interno, senza possibilità di fuoriuscita, quando si forma la cheratina. Secondo questo modello l'incorporazione avverrebbe durante la fase di crescita attiva ed in diretta proporzione con la concentrazione ematica. Il passaggio delle molecole dal sangue alle cellule del bulbo pilifero dipende da fattori quali la natura delle membrane, la velocità di flusso del sangue, la forma ed il peso molecolare, la percentuale di legame con le proteine plasmatiche, la liposolubilità, il rapporto tra forma ionizzata e non ionizzata, il gradiente di concentrazione.

Teorie alternative sostengono il coinvolgimento anche di altri meccanismi: secrezione nel sudore, secrezione nel sebo, esposizione dei capelli alla sostanza attraverso



vapori, particelle o per contatto con soluzioni. Quest'ultimo modello prevede che l'incorporazione avvenga quando il fusto è ormai fuoriuscito dal cuoio capelluto ed include la possibilità di una contaminazione esterna.

L'entità dell'incorporazione (che poi si riflette sul dato analitico delle concentrazioni) può risultare influenzata da fattori quali l'etnicità, il tipo di pelo ed i trattamenti cosmetici. Per l'etnicità entra in gioco la melanina che è più abbondante nei fusti piliferi di colore scuro e di diametro maggiore; gli asiatici hanno capelli con un diametro di 65-95 micron contro i 40-75 micron dei caucasici e nei soggetti di etnia mongola i granuli di melanina sono in assoluto di dimensioni maggiori rispetto a quelle di altre razze. A titolo esemplificativo, è questo il motivo cui i capelli dei coreani dimostrano, a parità di grado di esposizione, una capacità di legame per la cocaina 6,8 maggiore rispetto a quella dei caucasici. Per contro la minor capacità di legame è quella mostrata dai capelli biondi delle donne caucasiche. Per quanto concerne il tipo di pelo, nelle valutazioni comparative i peli ascellari e quelli pubici presentano concentrazioni maggiori rispetto ai capelli per una serie di elementi contestuali: maggior durata della fase telogen ed esposizione ai secreti delle ghiandole sebacee apocrine ed eccrine, di quelle sudorifere, oltre alla diffusione passiva dal circolo sistemico. Il contenuto degli xenobiotici nei capelli non viene modificato dalle normali pratiche igieniche con prodotti specifici. Al contrario trattamenti come le decolorazioni, le permanenti ed anche le tinture, alterando la conformazione della cuticola esterna aumentano la permeabilità del capello e favoriscono la fuoriuscita delle sostanze incorporate. Per lo stesso motivo, i capelli decolorati sono maggiormente esposti al fenomeno della contaminazione esterna.

Rispetto alle altre matrici biologiche, i capelli offrono il vantaggio della non invasività del prelievo, di un più ampio tempo di rilevabilità, della facilità di conservazione del campione che non richiede precauzioni particolari, unitamente alla possibilità di poter essere analizzato anche dopo mesi o anni dal prelievo e di consentire una cronologia delle assunzioni. Il campione ideale va prelevato nella zona occipitale del vertice superiore del cranio, dove vi è la maggior uniformità nella crescita dei fusti piliferi, rasando la ciocca, precedentemente legata, a filo del cuoio capelluto con forbici affilate. Le dimensioni della ciocca prelevata devono garantire l'analisi di almeno 5-10 mg di matrice pilifera; per la conservazione, a temperatura ambiente, la ciocca può essere avvolta in un involucri di carta o posta in un sacchettino di nylon. Se il prelievo viene effettuato da cadavere, è necessario effettuarlo prima di iniziare le procedure settorie e ciò per evitare possibili contaminazioni da parte dei fluidi corporei.

L'analisi dei capelli per il rilievo di nicotina e cotinina consta di una serie di procedure che prevedono un processo di decontaminazione con detergenti e/o solventi organici,

seguito da una digestione in ambiente basico. Successivamente il digerito alcalino può essere neutralizzato ed esaminato mediante tecnica radioimmunologica o sottoposto ad estrazione con solventi organici, analizzando l'estratto con tecniche cromatografiche (gascromatografia con rivelatore di massa o azoto-fosforo e cromatografia liquida ad alta pressione con sistema di rivelazione di massa o elettrochimico).

Accertamenti su neonati - Dimostrazione dell'esposizione fetale al fumo

I capelli dei neonati alla nascita rappresentano la crescita avvenuta nell'ultimo trimestre di gravidanza e la loro analisi è quindi utile per verificare l'eventuale esposizione della madre a farmaci, droghe, tossine ambientali (come la nicotina) in quest'ultimo periodo della gestazione. Studi comparativi hanno evidenziato che esistono significative correlazioni tra le concentrazioni di nicotina e cotinina nei capelli delle madri e dei rispettivi neonati in dipendenza anche del grado di esposizione (fumo attivo, fumo passivo, non esposte) [Kintz et al., 1992, 1993].

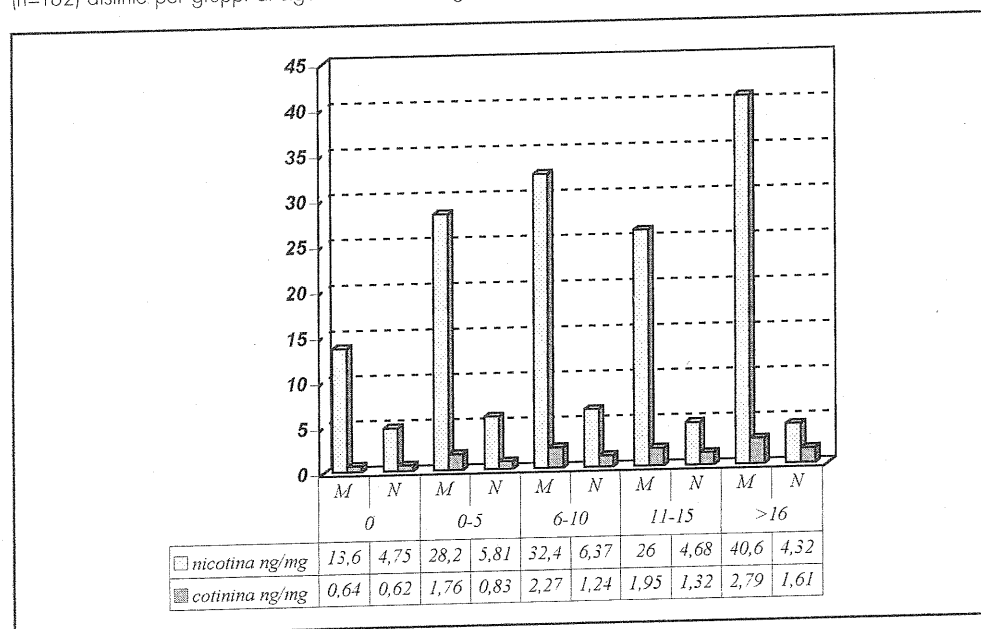
La suddivisione per classi di esposizione evidenzia come nel gruppo dei neonati da madre fumatrice le concentrazioni di nicotina siano statisticamente maggiori rispetto sia al gruppo dei neonati da madre esposta passivamente, sia di quello da madre non fumatrice. Non esistono invece differenze statisticamente significative relativamente alle concentrazioni di cotinina nei neonati dei 3 gruppi, mentre per la nicotina una differenza statisticamente significativa è stata osservata solo tra il gruppo "madri fumatrici" e "madri esposte al fumo passivo" (Klein et al., 1999).

Autore	Nicotina ng/mg		Cotinina ng/mg	
	Madri	Neonati	Madri	Neonati
Kintz et Al. 1992, 1993 40 coppie neonati-madri fumatrici Prelievi al momento della nascita o nell'arco di 1-5 giorni dal parto	0,37 - 63,50	0,11 - 11,80*	=	=
	Correlazione significativa (P<0,001) * cotinina urinaria 0 - 83 ng/m			
Klein et. Al. 1999 94 coppie madri-neonati: a) 36 fumatrici (1-40 sigarette/giorno) b) 23 esposte al fumo passivo in ambiente lavorativo o domestico, c) 35 non fumatrici Prelievi 1-3 giorni dopo la nascita	a) 0,3 - 132	0,07 - 27,3	0,09 - 127	0,04 - 18,8
	b) 0,17 - 12,6	0,04 - 18,8	0,04 - 1,19	0,06 - 2,54
	c) 0 - 10,1	0 - 1,85	0 - 1,97	0,06 - 1,34
	Concentrazioni materne maggiori di quelle neonatali (P<0,001)			

L'uniformità delle concentrazioni di nicotina nei neonati di madri esposte al fumo passivo e di madri non esposte (gruppo costituito sulla base delle dichiarazioni delle

singole donne) conferma l'ubiquitarità dell'ETS che espone al rischio inconsapevole dell'assorbimento involontario. Nella tabella sottostante sono sintetizzati gli intervalli di concentrazione della nicotina e della cotinina rilevati nel corso di alcuni studi comparativi condotti sui capelli delle madri e sui capelli dei rispettivi neonati. Studi successivi (Jacqz-Aigrain et al., 2002) hanno evidenziato, nell'ambito di 182 coppie neonati-madri, una significativa correlazione ($r=0,40 - P<0,0001$) solo tra le concentrazioni di cotinina nei capelli delle madri e dei neonati ed in stretta dipendenza del numero di sigarette fumate nel terzo trimestre di gravidanza. Secondo gli autori questo dato rappresenterebbe l'evidenza biochimica del rischio connesso con l'esposizione al fumo passivo.

Confronto fra le concentrazioni medie di nicotina e cotinina rilevate nei capelli delle madri-M- e dei neonati-N- (n=182) distinte per gruppi di sigarette fumate al giorno (da 0 a >16) [elaborazione personale dei dati riferiti



da Jacqz-Aigrain et al., 2002].

L'incorporazione della nicotina nei capelli delle donne fumatrici gravide non è costante nell'arco dei 9 mesi, ma diminuisce dal 1° al 3° trimestre senza che vi sia, da parte delle stesse, una riduzione nel numero di sigarette fumate giornalmente. Le concentrazioni di cotinina, verificate attraverso l'analisi segmentale (3 segmenti da 3 cm, ciascuno rappresentativo del corrispondente trimestre di gravidanza) si mantengono pressochè costanti (min 0,76-max 0,98 ng/mg), mentre quelle della nicotina si riducono nel 3° trimestre di oltre il 30% rispetto al 1°, passando da una concentrazione media di 15,6

ng/mg a 10 ng/mg. Questa apparente accelerazione del metabolismo sarebbe legata ad un'aumentata attività dell'enzima CYP2A6, stimolata da modificazioni ormonali (Klein et al., 2004).

Accertamenti sui bambini - Dimostrazione dell'esposizione all'ETS

Il rilievo quali-quantitativo della nicotina e del suo metabolita nei capelli di bambini consente di stabilire il grado di esposizione al fumo ambientale (ETS), discriminando i figli di fumatori da quelli di non fumatori. L'abitazione rappresenta il mezzo determinante dell'ETS, unitamente al tempo trascorso in essa ed all'abitudine al fumo da parte della madre. Anche contatti occasionali con soggetti fumatori possono generare positività per nicotina e cotinina nei capelli di bambini e diversi sono gli studi al riguardo. Alcuni risultati di questi sono sintetizzati nella tabella sottostante, nella quale vengono indicati gli intervalli di concentrazione evidenziati.

Autore	Nicotina (cotinina) ng/mg
Pichini et Al. 1997 24 bambini, di età compresa tra i 3 ed i 36 mesi	
a) n=10 non esposti, con genitori non fumatori	a) 0 - 3,4 (0)
b) n=7 esposti occasionalmente, con genitori fumatori di 4-5 sigarette/settimana o con contatti sporadici con nonni fumatori	b) 2,5 - 8,9 (0 - 0,1)
c) n=7 esposti passivamente, con genitori fumatori	c) 9,3 - 24,9 (0 - 3,3)
Kalinic et Al. 2003 33 bambini di età compresa tra 5 e 7 anni	
A) n= 13 non esposti	A) 0,27 - 4,42
B) n= 20 con genitori ed altri parenti fumatori	B) 1,29 - 7,89
concentrazioni gruppo A) statisticamente maggiori del gruppo B (P<0,01)	

Entrambi i gruppi di lavoro hanno evidenziato come per alcuni bambini le concentrazioni di nicotina nei capelli devino da quelle uniformemente riscontrate negli altri bambini dello stesso gruppo. Ciò trova una motivazione nella scarsa accuratezza delle informazioni fornite dai genitori che, in relazione alla problematica sulla salvaguardia della salute dei loro figli, tendono a sminuire l'effettivo uso del tabacco; un'altra motivazione riguarda la possibilità di contaminazione attraverso una via diversa da quelle considerate nella progettazione dello studio.

Alle stesse conclusioni di tipo quantitativo è pervenuto un altro gruppo di ricercatori (Al-Delaimy et al., 2001) che ha, inoltre, approfondito la valutazione dell'incidenza di

alcuni fattori sul grado di esposizione dei bambini all'ETS. Sono stati esaminati 170 bambini di età compresa tra i 3 mesi ed i 10 anni, rilevando concentrazioni di nicotina comprese tra $< 0,1$ e $24,7$ ng/mg; tali valori sono stati poi elaborati considerando l'apporto della madre fumatrice o del solo padre fumatore rispetto ai due genitori non fumatori, l'età del bambino ed il tempo di permanenza giornaliero nelle proprie abitazioni.

Bambini con entrambi i genitori fumatori, frequentati da ospiti fumatori, presentavano nei capelli concentrazioni di nicotina statisticamente maggiori rispetto ai figli di non fumatori e senza visitatori fumatori. Concentrazioni di nicotina minime, assai vicine al limite di rilevabilità della tecnica utilizzata, sono state riscontrate nei capelli di bambini con un'anamnesi negativa all'esposizione al fumo da parte di parenti o visitatori. Analogamente, queste concentrazioni sono state osservate in bambini, figli di non fumatori, che per qualche ora alla settimana hanno avuto contatti con parenti o amici di famiglia "forti fumatori".

Nell'ambito strettamente familiare, il tabagismo delle madri determina nei capelli dei rispettivi figli concentrazioni di nicotina statisticamente maggiori rispetto al gruppo delle "madri non fumatrici" e ciò è ancor più evidente se la madre ha l'abitudine di fumare in spazi ristretti come l'abitacolo dell'auto. Se è solamente il padre che fuma, la concentrazione media di nicotina nei capelli dei figli è meno del 40% rispetto alla concentrazione media rilevata nel gruppo delle madri fumatrici e la differenza con il gruppo dei padri non fumatori è statisticamente meno significativa. Sebbene alcuni di essi abbiano riferito di essere accaniti fumatori, il fatto di assentarsi da casa per parecchie ore e di concentrare sul posto di lavoro il maggior numero di sigarette fumate nella giornata, costituisce una minore fonte di ETS domestico.

Il tempo di permanenza in abitazioni ove si fuma determina concentrazioni maggiori di nicotina per i bambini di età inferiore che vi risiedono per più ore rispetto a quelli in età scolare.

Va rilevato che la contaminazione da fumo ambientale può avvenire anche quando il genitore fuma all'esterno della casa e quando la casa è stata precedentemente abitata da fumatori.

Conclusioni

I dati relativi al rilievo della nicotina e del suo metabolita nei capelli dei bambini, siano essi neonati od infanti, dimostrano che non sussisterebbero differenze sostanziali tra un'incorporazione attraverso la circolazione sistemica e l'adsorbimento a seguito di un fenomeno di contaminazione esterna. In ogni caso, il riscontro positivo della nicotina e/o del suo metabolita, anche solo di tipo qualitativo, indicherebbe che quel soggetto è stato esposto al fumo di tabacco

e potenzialmente potrebbe risentire di patologie ad esso correlate.

Nello studio delle cause di morte improvvisa del lattante ed inaspettata del feto, va rilevata la necessità di indagare, nelle stesse matrici pilifere, altri xenobiotici o indicatori dell'assunzione, da parte della madre durante la gravidanza e/o durante il periodo di allattamento, di farmaci, alcool, sostanze stupefacenti.

Bibliografia

1. Schoendorf K.C., Keily J.L., Relationship of sudden infant death syndrome to maternal smoking during and after pregnancy. *Pediatrics* 1992; 90: 905-908.
2. Kintz P., Tracqui A., Mangin P., Tobacco, drug and narcotic abuse during pregnancy. Evaluation of in utero exposure by analysis of hair of the neonate. *Presse Medicale* 1992; 21(44): 2139-41.
3. Kintz P., Kieffer I., Messer J., Mangin P., Nicotine analysis in neonates' hair for measuring gestational exposure to tobacco. *Journal of Forensic Sciences* 1993; 38(1): 119-123.
4. Klein J., Chitayat D., Koren G., Hair analysis as a marker for fetal exposure to maternal smoking. *New England Journal of Medicine* 1993; 328(1): 66-70.
5. Kintz P., Mangin P., Evidence of gestational heroin or nicotine exposure by analysis of fetal hair. *Forensic Science International* 1993; 63(1-3): 99-104.
6. Kintz P., Mangin P., Determination of gestational opiate, nicotine, benzodiazepine, cocaine and amphetamine exposure by hair analysis. *Forensic Science Society* 1993; 33(3): 139-142.
7. Nafstad P., Botten G., Hagen J.A., Zahlsen K., Nilsen O.G., Silsand T., Kongerud J. Comparison of three methods for estimating environmental tobacco smoke exposure among children aged between 12 and 36 months. *International Journal of Epidemiology* 1995; 24(1): 88-94.
8. Goullé J.P., Kintz P., Un nouveau moyen d'investigation biologique : l'analyse des cheveux. Intérêt en pratique médicale. *Revue de Medecine Interne* 1996 ; 17(10): 826-835.
9. Nafstad P., Jaakkola J.J., Hagen J.A., Zahlsen K., Magnus P., Hair nicotine concentrations in mothers and children in relation to parental smoking. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 1997; 7(2): 235-239.
10. Pichini S., Altieri I., Pellegrini M., Pacifici R., Zuccaro P., Hair analysis for nicotine and cotinine: evaluation of extraction procedures, hair treatments, and development of reference material. *Forensic Science International* 1997; 84(1-3): 243-252.
11. Nafstad P., Fugelseth D., Qvigstad E., Zahlsen K., Magnus P., Lindemann R. Nicotine concentration in the hair of nonsmoking mothers and size of offspring. *American Journal of Public Health* 1998; 88(1): 120-124.

12. Klein J., Koren G., Hair analysis-a biological marker for passive smoking in pregnancy and childhood. *Human & Experimental Toxicology* 1999; 18(4): 279-282.
13. Al-Delaimy W.K., Crane J., Woodward A., Passive smoking in children: effect of avoidance strategies, at home as measured by hair nicotine levels. *Archives of Environmental Health* 2001; 56(2): 117-122.
14. Mahoney G.N., Al-Delaimy W., Measurement of nicotine in hair by reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography B, Biomedical Sciences & Applications* 2001; 753(2): 179-187.
15. Jaakkola J.J., Jaakkola N., Zahlsen K., Fetal growth and length of gestation in relation to prenatal exposure to environmental tobacco smoke assessed by hair nicotine concentration. *Environmental Health Perspectives* 2001; 109(6): 557-561.
16. Jacqz-Aigrain E., Zhang D., Maillard G., Luton D., Andre J., Oury J.F. Maternal smoking during pregnancy and nicotine and cotinine concentrations in maternal and neonatal hair. *BJOG: an International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 2002; 109(8): 909-911.
17. Caligara M., Gigli F., Il dato quantitativo nell'analisi di sostanze stupefacenti nel capello: potenzialità e limiti. Relazione al VII Convegno Nazionale del Gruppo Tossicologi Forensi della S.I.M.L.A., Cagliari, 8-9 ottobre 1999, in *Med. Leg. Quad. Cam. XXV*, 3, 149-162, 2003.
18. Caligara M., Gigli F., Rilievo comparativo di sostanze d'abuso in matrici pilifere prelevate in diverse sedi corporee. Relazione al VIII Convegno Nazionale del Gruppo Tossicologi Forensi della S.I.M.L.A., Abbazia di Passignano (FI), 22-24 giugno 2001, in *Med. Leg. Quad. Cam. XXV*, 3, 163-175, 2003.
19. Kalinic N., Skender L.J., Karacic V., Brcic I., Vadjic V., Passive exposure to tobacco smoke: hair nicotine levels in preschool children. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 2003; 71(1): 1-5.
20. Matt G.E., Quintana P.J.E., Hovell M.F., Bernert J.T., Song S., Novianti N., Juarez T., Floro J., Gerhrman C., Garcia M., Larson S., Households contaminated by environmental tobacco smoke: sources of infant exposures. *Tobacco Control* 2004; 13: 29-37.
21. Chan D., Caprara D., Blanchette P., Klein J., Koren G., Recent developments in meconium and hair testing methods for the confirmation of gestational exposures to alcohol and tobacco smoke. *Clinical Biochemistry* 2004; 37(6): 429-438.
22. Chetiyankornkul T., Toriba A., Kizu R., Kimura K., Hayakawa K., Hair analysis of nicotine and cotinine for evaluating tobacco smoke exposure by liquid chromatography-mass spectrometry. *Biomedical Chromatography* 2004; 18(9): 655-661.
23. Kronstrand R., Nystrom I., Strandberg J., Druid H., Screening for drugs of abuse

in hair with ion spray LC-MS-MS. *Forensic Science International* 2004; 145(2-3): 183-190.

24. Klein J., Blanchette P., Koren G., Assessing nicotine metabolism in pregnancy-a novel approach using hair analysis. *Forensic Science International* 2004; 145 (2-3): 191-194.

25. Groner J.A., Hoshaw-Woodard S., Koren G., Klein J., Castile R., Screening for children's exposure to environmental tobacco smoke in a pediatric primary care setting. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* 2005; 159(5): 450-455.

Prof. Franco Lodi

Sezione Autonoma di Tossicologia Forense - Istituto di Medicina Legale e delle Assicurazioni

Università degli Studi di Milano

e-mail: franco.lodi@unimi.it