

Maggio  
Giugno  
2009

www.iss.it/prvn

P R E V I E N I



Salute riproduttiva e contaminanti

Gentili Colleghi,

siamo lieti di presentarvi la newsletter, a cadenza trimestrale, dedicata al Progetto **PREVIENI**: "Studio triennale in aree pilota sui riflessi ambientali e sanitari di alcuni contaminanti chimici emergenti (interferenti endocrini)" (<http://www.iss.it/prvn>).

In questa prima fase la newsletter intende presentare e discutere alcuni articoli ed iniziative attinenti al sistema salute, sicurezza alimentare e qualità dell'ambiente da cui gli alimenti provengono. PREVIENI si indirizza ai contaminanti c.d. "emergenti", spesso non inclusi nei programmi di controllo; il progetto intende contribuire all'incremento della sinergia fra ricerca ed intervento: la caratterizzazione di biomarker intesa come snodo centrale per lo sviluppo di una *prevenzione traslazionale* che integri contributi complementari, dalla ricerca sui meccanismi di tossicità sino alla sorveglianza e promozione della salute.

#### **Qualità dell'ambiente, salute dei bambini e Progetto PREVIENI**

Carlo Zaghi, Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare.

#### **A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner.**

Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, Gray LE Jr.

Toxicol Sci. 2008 Sep;105(1):153-65.

Commento di: Cinzia La Rocca, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità

#### **Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro.**

Slotkin TA, MacKillop EA, Melnick RL, Thayer KA, Seidler FJ. Environ Health Perspect. 2008 Jun;116(6):716-22.

Commento di: Cinzia La Rocca, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità

#### **Bisphenol A: Perinatal exposure and bodyweight.**

Rubin, B.S., Soto, A.M.

Mol. Cell. Endocrinol. (2009) in press.

Commento di: Cristiana Guerranti, Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena.

#### **Prodotti tipici toscani per un pranzo a basso tenore di contaminanti**

Cristiana Guerranti, Monia Renzi, Guido Perra, Silvano Focardi, Dip. Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena.

A cura di Francesca Baldi.

## Qualità dell'ambiente, salute dei bambini e Progetto PREVIENI

Carlo Zaghi, Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare.

Il G8 Ambiente di Siracusa (22/24 aprile 2009) ha dedicato una Sessione di lavoro al tema "Salute dei bambini e ambiente". In tale Sessione i Ministri dell'ambiente hanno identificato diverse azioni da attuare nell'immediato futuro, tra cui la promozione di una rapida eliminazione del piombo dalle vernici e dalla benzina, l'avvio di studi e ricerche relativi al rapporto tra qualità dell'ambiente e salute dei bambini, per migliorare le conoscenze in questo campo e sviluppare idonei indicatori.

L'attenzione prestata dal G8 Ambiente al tema del rapporto tra ambiente e salute dei bambini costituisce un fatto certamente rilevante e conferma le azioni già avviate dalla comunità scientifica e politica anche in ambito nazionale: a questo riguardo, nel 2008, il Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare (Direzione generale per la salvaguardia ambientale) ha promosso uno Studio triennale in aree pilota sui riflessi ambientali e sanitari di alcuni contaminanti chimici emergenti (Progetto PREVIENI).

PREVIENI è focalizzato sui problemi relativi all'esposizione della popolazione, nelle fasce di età più sensibili, a sostanze chimiche pericolose e, in particolare, a sostanze che agiscono come interferenti endocrini.

Il Progetto, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, coinvolge tre unità di ricerca (Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Perinatologia e Puericultura dell'Università degli Studi di Roma La Sapienza, Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università degli Studi di Siena e Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare dell'Istituto Superiore di Sanità) ed è realizzato in 4 aree pilota esemplificative di differenti scenari di esposizione:

1. area industriale a rischio elevato, con incidenze elevate di patologie tumorali e non
2. area ad elevato consumo di prodotti ittici
3. area ad elevato inquinamento urbano
4. area considerata a rischio medio-basso, utilizzata ai fini di controllo.

Due aree ulteriori, con caratteristiche specifiche, sono state destinate allo studio delle popolazioni animali sentinella. In sintesi, risultati attesi dallo Studio, la cui conclusione è prevista tra la fine del 2010 e l'inizio del 2011, sono i seguenti:

- Produzione di informazioni affidabili a livello nazionale per la stima dei rischi effettivi per la salute riproduttiva e dell'età evolutiva derivanti dai contaminanti e dall'eventuale ruolo di cofattori legati alla dieta e stili di vita
- Analisi del rischio per sottogruppi vulnerabili della popolazione: bambini e soggetti con disturbi metabolici
- Elaborazione di metodologie di prevenzione integrate dei fattori di rischio legati all'ambiente di vita, applicabili dalle strutture sanitarie del SSN
- Comparazione dei dati raccolti sull'uomo con i dati raccolti sulle specie animali residenti nella stessa area in esame e potenzialmente esposti agli stessi contaminanti, al fine di identificare un sistema sentinella per la protezione di tutte le specie, comprese quelle animali
- Analisi del fenomeno del bioaccumulo di interferenti endocrini nelle specie animali occupanti aree a monte e a valle di siti con contaminazione chimica di origine industriale
- Valutazione di possibili specie sentinella a livelli trofici inferiori per il rilevamento tempestivo di contaminazione ambientale da interferenti endocrini in fase iniziale.

Individuazione di possibili bioindicatori, compresi biomarcatori di esposizione a interferenti endocrini per il monitoraggio della popolazione, in accordo con le raccomandazioni della Strategia Europea per l'Ambiente e la Salute.

**A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner.**

Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, Gray LE Jr.  
Toxicol Sci. 2008 Sep;105(1):153-65.

Diversi studi sperimentali riportano la presenza di vari composti annoverati nel gruppo degli ftalati in differenti fluidi biologici umani, quali urine, saliva, liquido amniotico e sangue di cordone. Gli ftalati sono comunemente utilizzati nelle materie plastiche in cloruro di polivinile, nei dispositivi medici, nei giocattoli, nei prodotti cosmetici, nei solventi.

I dati di biomonitoraggio confermano che la popolazione subisce un'esposizione multipla a tali composti noti per interferire con lo sviluppo dell'apparato riproduttivo, provocando una serie di malformazioni comprese nel termine "sindrome da ftalati", evidenziate negli studi su animali da laboratorio. Questo aspetto mette in evidenza la necessità di eseguire studi sugli effetti delle sostanze considerate non più o non solo singolarmente ma in miscela, come riportato nel lavoro di Howdeshell e coll., in cui lo studio eseguito in vivo con i singoli composti è necessario per stabilire i livelli da utilizzare nella miscela e per poter confrontare gli effetti.

I ratti vengono esposti in utero a diverse concentrazioni di butilbutilftalato (BBP), di(n)butilftalato (DBP) dietilxilftalato (DEHP), dietilftalato (DEP), diisobutilftalato (DiBP) e dipentilftalato (DPP), e al 18 giorno di gestazione viene misurato il livello di testosterone fetale, indicato dall'EPA quale parametro critico, per il suo ruolo determinante durante il periodo di differenziamento dell'apparato sessuale maschile dei mammiferi.

La somministrazione della miscela riduce la produzione di testosterone fetale alla dose di 260 mg/Kg p.c. die: all'interno della miscela però ogni composto è presente nella misura del 20% rispetto alla dose che da solo provoca lo stesso effetto.

Dunque, a causa dell'effetto additivo e cumulativo della miscela, è sufficiente che un composto sia presente a dosi inferiori purchè contemporaneamente ad altri composti simili per evocare la stessa risposta cui si giungerebbe con dosi maggiori, se preso singolarmente.

Naturalmente il testosterone è meramente un biomarker, indicativo di possibili effetti monofunzionali sullo sviluppo dell'apparato riproduttivo maschile. Pertanto, come riconoscono anche gli AA dell'articolo, la domanda successiva, fondamentale per la valutazione del rischio, è quale sia la correlazione fra l'esposizione a ftalati in miscela, la riduzione del livello di testosterone fetale e l'induzione di malformazioni a carico dei tessuti androgeno-dipendenti.

Questi due punti, a) la necessità di effettuare studi di miscele così come si presentano negli studi di monitoraggio e b) la individuazione del livello minimo cui si evocano effetti sono indispensabili ai fini della valutazione del rischio per l'esposizione combinata a composti con comuni effetti tossici.

*Commento di: Cinzia La Rocca, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità*

## Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro.

Slotkin TA, MacKillop EA, Melnick RL, Thayer KA, Seidler FJ.  
 Environ Health Perspect. 2008 Jun;116(6):716-22.

Gli acidi perfluoroalchilici comprendono un vasto gruppo di composti, tra cui il perfluorottano sulfonato (PFOS) e l'acido perfluorooctanoico (PFOA), maggiormente diffusi nell'ambiente, ma anche il perfluorobutano sulfonato (PFBS), recentemente utilizzato in sostituzione dei primi due poiché nei tessuti ha un tempo di permanenza inferiore, e la perfluorooctano sulfonamide (PFOSA). Vengono utilizzati in applicazioni industriali, in pesticidi e in prodotti che rientrano nell'uso comune, tra cui i rivestimenti idrorepellenti e antimacchia per tessuti e tappeti, i rivestimenti resistenti all'olio per prodotti di carta per uso alimentare, le schiume antincendio, le vernici per pavimenti.

Come indicato dall'EFSA, la popolazione è esposta a PFOS e PFOA principalmente attraverso gli alimenti, in particolare quelli ittici, mentre altre vie di esposizione correlate agli alimenti, per quanto modeste, sono rappresentate dall'acqua potabile, dai materiali di imballaggio per alimenti (per esempio, i sacchetti di popcorn per microonde) e dagli utensili da cucina (rivestimenti antiaderenti). Fonti espositive non alimentari, rappresentate dalle polveri presenti nelle abitazioni, incidono in misura inferiore e molto differente a seconda dei composti.

Il lavoro di Slotkin e coll. stabilisce una scala di neurotossicità dei composti, PFOSA>PFOS>PFOA~PFBS, osservando gli effetti su cellule neuronali differenziate e non, e mettendo in evidenza problemi che possono intervenire in fase di sviluppo. Aspetto importante è che l'esposizione delle linee cellulari avviene a concentrazioni di contaminanti più basse di quelle che determinano tossicità sistemica.

A tal fine vengono selezionati alcuni biomarcatori attraverso i quali seguire le risposte cellulari, quali rapporto proteine/DNA, come segnale di proliferazione cellulare, rapporto membrane/proteine totali, come segnale di differenziamento, capacità di indurre stress ossidativo, e attività di enzimi di sintesi dei due neurotrasmettitori acetilcolina e dopamina, determinanti il fenotipo cellulare. I diversi composti differiscono anche per la diversa capacità di indurre stress ossidativo o proliferazione cellulare in misura diversa a seconda che la cellula sia in fase di differenziamento o già differenziata. Questo può indicare che l'azione tossica è espletata mediante meccanismi diversi e soprattutto che il periodo di vita in cui avviene l'esposizione è particolarmente critico. Inoltre ogni composto ha una diversa capacità di aumentare o sopprimere specifici tipi cellulari, determinando un diverso destino del neurone, che può differenziare in un fenotipo che produrrebbe un neurotrasmettitore inappropriato. Da sottolineare infine che a causa della natura della relazione dose-effetto, differenti livelli di esposizione possono dare risposte opposte.

Questo lavoro offre vari spunti di riflessione:

- occorre indagare gli effetti delle sostanze a concentrazioni al di sotto di quelle che inducono tossicità evidente;
- occorre tener conto del momento dello sviluppo in cui un effetto potrebbe determinarsi;
- la relazione dose-risposta è determinante per caratterizzare gli effetti critici per la valutazione del rischio;
- a conoscenza del meccanismo d'azione è necessaria per identificare biomarker nonché paragonare diverse sostanze di uno stesso gruppo.

*Commento di: Cinzia La Rocca, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità*

## **Bisphenol A: Perinatal exposure and bodyweight.**

Rubin, B.S., Soto, A.M.  
Mol. Cell. Endocrinol. (2009) *in press*.

A circa un anno di distanza dall'allarme sulla sicurezza delle bottiglie di plastica contenenti bisfenolo A (BPA), Beverly S. Rubin e Ana M. Soto, della *Tufts University School of Medicine* di Boston (USA), pubblicano su una delle principali riviste scientifiche internazionali di endocrinologia questa interessante *review*.

Il BPA è una componente di alcune materie plastiche destinate al contatto con cibi e bevande; per migrazione dai contenitori, il BPA contamina gli alimenti e viene regolarmente ingerito, tanto che, in un recente studio, questa molecola è stata rilevata nelle urine del 92,6% della popolazione degli Stati Uniti. Se si considera che il BPA viene rapidamente metabolizzato ed escreto dall'organismo, questi dati suggeriscono una continua esposizione a questo interferente endocrino, che può, tuttavia, in parte anche essere immagazzinato nel tessuto adiposo umano.

E' noto fin dagli anni '30 che il BPA è in grado di mimare l'azione degli ormoni estrogenici: gli effetti sulla fertilità e la riproduzione, nonché sul sistema endocrino sono stati oggetto di numerosi studi scientifici. Questa recentissima *review* affronta, invece, un aspetto in qualche modo emergente tra le problematiche legate all'esposizione a BPA, ovvero la relazione tra esposizione perinatale al BPA e peso corporeo. Il BPA viene, infatti, usato nella produzione del policarbonato, una plastica rigida impiegata nella produzione di biberon per neonati, che, insieme ai bambini, appartengono virtualmente ai gruppi con la più consistente esposizione dietetica al BPA.

La potenzialità del BPA di influenzare il peso corporeo è suggerita da studi *in vitro* che dimostrano gli effetti di questa molecola sugli adipociti in differenziazione, sull'accumulo di lipidi, sul trasporto del glucosio e sulla secrezione di adiponectina, ormone che controlla il metabolismo energetico di lipidi e carboidrati. Risultati di altre sperimentazioni *in vivo* hanno dimostrato effetti dose-dipendenti e sesso-dipendenti sul peso corporeo perinatale dei roditori esposti a BPA. Allo stato dell'arte, i meccanismi attraverso i quali l'esposizione al BPA può esercitare effetti persistenti sul peso corporeo restano da determinare; vengono presi in considerazione in questo lavoro numerosi studi nei quali si è cercato di determinare i possibili *target* del BPA, tra i quali alcuni presenti a livello cerebrale, pancreatico, del tessuto adiposo e del sistema degli ormoni tiroidei.

Le ipotesi più accreditate sui meccanismi di azione del BPA presuppongono che l'esposizione precoce al BPA possa influenzare vari meccanismi fondamentali per la regolazione del peso corporeo, compresa la deposizione di adipociti, la captazione e l'omeostasi del glucosio da parte di questi ultimi, nonché lo sviluppo e la maturazione di circuiti metabolici importanti per la produzione di energia. La specificità dei percorsi e dei meccanismi interessati dagli effetti dell'esposizione perinatale al BPA sembra essere influenzata dall'intensità e dal tempo dell'esposizione stessa, nonché da altri fattori, come i livelli di ormoni endogeni in circolo.

*Commento di Cristiana Guerranti, Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena.*

## Prodotti tipici toscani per un pranzo a basso tenore di contaminanti

Cristiana Guerranti, Monia Renzi, Guido Perra, Silvano Focardi, Dip. Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università degli Studi di Siena.

Lo scorso 6 maggio si è tenuta, presso l'Istituto Professionale Di Stato "L. Einaudi" di Grosseto, la manifestazione conclusiva del "Progetto per il potenziamento dello studio delle discipline scientifiche dalla scuola dell'infanzia alla scuola secondaria superiore", realizzato con il finanziamento della Fondazione MPS e svolto in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Ambientali dell'Università degli Studi di Siena. Ogni Istituto partecipante ha sviluppato sperimentazioni didattiche finalizzate al raggiungimento di obiettivi specifici: in particolare, i ragazzi dell'Istituto Alberghiero hanno approfondito le problematiche relative alla sicurezza alimentare, per poter proporre un pranzo a basso tenore di contaminanti con l'impiego di materie prime locali.

Gli studenti, affiancati dai ricercatori, hanno collaborato all'esecuzione dell'analisi del contenuto di contaminanti nelle diverse materie prime (alimenti e bevande), sia locali che non, impiegate ed impiegabili per la realizzazione di portate nelle strutture ristorative.

In particolare sono stati misurati livelli dei composti perfluorurati PFOS e PFOA negli ingredienti necessari per l'allestimento di un pasto completo di 4 portate (antipasto, primo, secondo e dessert) includendo anche materie prime per aperitivi, pane e stuzzichini.

Sono stati quindi inizialmente analizzati gli ingredienti crudi, per valutare contaminazioni a monte della manipolazione. Nella scelta degli alimenti sono stati considerati alcuni ingredienti alternativi ad altri; tra le carni, ad esempio, sono state effettuate analisi su carne bovina "razza Maremmana" e carne di altra provenienza, a costo minore, scelta come controllo, per verificare se ci fosse una differenza rispetto alla prima, per quanto riguarda il contenuto eventuale di contaminanti.



© Davide Guerranti

In relazione ai livelli riscontrati si è effettuata la selezione delle materie prime meno contaminate e si è ipotizzata una serie di portate nelle quali potessero essere impiegate. Quindi sono state analizzate le portate a vari stadi di preparazione ed infine i piatti pronti al consumo.

Il pranzo, realizzato e servito in occasione della manifestazione, rappresentava l'associazione di portate a minore livello di contaminanti, emersa in seguito alle analisi effettuate ed era così composto: sfornato di borlotto nano, risotto ai carciofi, brasato di Maremmana con polenta e mousse di ricotta con frutti di bosco e miele.

Il PFOS è stato rilevato in 5 degli 85 campioni analizzati, in concentrazioni molto basse (1,1-2,3 ng/g peso fresco), mentre le concentrazioni di PFOA sono risultate sempre al di sotto del limite di rilevabilità.

La contaminazione riscontrata in due tipologie di spezie (noce moscata e pepe), può ragionevolmente essere imputata alla migrazione di PFOS da contenitori di conservazione, utilizzati anche a monte dell'acquisto delle stesse. Date le quantità esigue di queste spezie impiegate nelle preparazioni non si sono riscontrate contaminazioni dei piatti finiti, ad esclusione del risotto. Per quanto riguarda quest'ultimo, la contaminazione è stata rilevata anche a vari stadi di cottura del piatto ed è ragionevolmente da imputarsi ai carciofi, che probabilmente hanno assunto il contaminante in seguito alle operazioni di taglio effettuate sempre su tagliere in teflon. Non è stato possibile verificare questa ipotesi per il fatto che il campione di carciofi crudi è andato perso durante le fasi analitiche.

Dato che la concentrazione di PFOS nel risotto risulta di 1,23 ng/g peso fresco, l'assunzione di contaminante con il consumo di una porzione, che rappresenta poi anche l'assunzione totale di PFC legata all'intero pasto proposto, risulta di 123 ng, un valore molto basso e abbondantemente compreso nei limiti di sicurezza proposti dall'EFSA (150 ng/Kg peso corporeo al giorno).

