



# RAPPORTI ISTISAN 26|6

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

## **Presenza ambientale della $\beta$ -N-metilammino-L-alanina e bioaccumulo nella fauna ittica: evidenze da studi condotti in Italia**

V. Messineo, M. Bruno



AMBIENTE  
E SALUTE



**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

**Presenza ambientale  
della  $\beta$ -N-metilammino-L-alanina  
e bioaccumulo nella fauna ittica:  
evidenze da studi condotti in Italia**

Valentina Messineo (a), Milena Bruno (b)

*(a) Dipartimento Malattie Infettive*

*(b) già Servizio Grandi Strumentazioni e Core Facilities*

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

**Rapporti ISTISAN**  
**26/6**

Istituto Superiore di Sanità

**Presenza ambientale della  $\beta$ -N-metilammino-L-alanina (BMAA) e bioaccumulo nella fauna ittica: evidenze da studi condotti in Italia.**

Valentina Messineo, Milena Bruno  
2026, 39 p. Rapporti ISTISAN 26/6

La  $\beta$ -N-metilammino-L-alanina (BMAA) è un amminoacido non proteinogenico e una neurotossina emergente prodotta da cianobatteri, diatomee e dinoflagellate, di crescente interesse sanitario. È diffusa negli ambienti acquatici, capace di bioaccumularsi nella catena alimentare e potenzialmente associata a patologie neurodegenerative umane. I cianobatteri possono contaminare acqua e alimenti con BMAA, che agisce anche in sinergia con altre neurotossine ambientali. In Italia, fioriture cianobatteriche in laghi eutrofizzati e invasi artificiali, in particolare di *Planktothrix rubescens* e *Oscillatoria* spp., sono state correlate alla presenza di BMAA in acque, pesci e molluschi. L'esposizione umana avviene soprattutto tramite acqua potabile e alimenti acquatici contaminati ed è associata a quadri neurodegenerativi simili a Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), Alzheimer e SLA/Parkinsonism-Dementia Complex (PDC). L'aumento delle fioriture, favorito da cambiamenti climatici e attività antropiche, rende necessari monitoraggio, ricerca e strategie di mitigazione in un'ottica One Health.

*Parole chiave:* BMAA; Cianotossine; Fioriture algali; Neurotossicità; Acque interne; Pesce; One Health; Rischio alimentare; Aerosol lacustri

Istituto Superiore di Sanità

**Environmental occurrence of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) and bioaccumulation in fish fauna: evidence from studies conducted in Italy.**

Valentina Messineo, Milena Bruno  
2026, 39 p. Rapporti ISTISAN 26/6 (in Italian)

$\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) is a non-proteinogenic amino acid and an emerging neurotoxin produced by cyanobacteria, diatoms, and dinoflagellates, with increasing public health relevance. It is widespread in aquatic environments, capable of bioaccumulating along the food chain, and potentially associated with human neurodegenerative diseases. Cyanobacteria can contaminate water and food resources with BMAA, which may also act synergistically with other environmental neurotoxins. In Italy, cyanobacterial blooms in eutrophic lakes and artificial reservoirs, particularly involving *Planktothrix rubescens* and *Oscillatoria* spp., have been linked to the presence of BMAA in water, fish, and molluscs. Human exposure occurs mainly through contaminated drinking water and aquatic food products and has been associated with neurodegenerative conditions resembling ALS (Amyotrophic Lateral Sclerosis), Alzheimer's disease, and ALS/Parkinsonism-Dementia Complex (PDC). The increasing frequency of cyanobacterial blooms, driven by climate change and anthropogenic factors, highlights the need for enhanced monitoring, research, and mitigation strategies within a One Health framework.

*Key words:* Cyanotoxins; BMAA; Algal blooms; Neurotoxicity; Fish; Freshwater; One Health; Food risk

Per informazioni su questo documento scrivere a: [valentina.messineo@iss.it](mailto:valentina.messineo@iss.it)

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: [www.iss.it](http://www.iss.it)

Citare questo documento come segue:

Messineo V, Bruno M. *Presenza ambientale della  $\beta$ -N-metilammino-L-alanina (BMAA) e bioaccumulo nella fauna ittica: evidenze da studi condotti in Italia*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2026. (Rapporti ISTISAN 26/6).

---

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Rocco Bellantone*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Antonio Mistretta*

Redazione: *Sandra Salinetti, Annalisa D'Angelo*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.



# INDICE

<b>Introduzione</b> .....	1
<b>1. BMAA</b> .....	3
1.1. Possibile relazione tra BMAA e SLA/PDC.....	5
1.2. Caratteristiche chimiche e meccanismi di neurotossicità .....	6
1.3. Studi sugli ecosistemi e biomagnificazione .....	12
<b>2. Casi di rilevazione in Italia</b> .....	17
2.1. Raccolta dei campioni e siti di studio:.....	17
2.1.1. Lago di Vico .....	18
2.1.2. Lago Albano.....	18
2.1.3. Lago d’Averno .....	18
2.1.4. Lago di Occhito.....	19
2.2. Estrazione e quantificazione della BMAA .....	19
2.3. Identificazione e quantificazione dei cianobatteri e della tossina.....	19
2.3.1. Lago di Vico .....	20
2.3.2. Lago Albano.....	21
2.3.3. Lago d’Averno .....	22
2.3.4. Lago di Occhito.....	24
<b>Conclusioni</b> .....	28
<b>Bibliografia</b> .....	31



## INTRODUZIONE

La  $\beta$ -N-metilamino-L-alanina (BMAA) è un amminoacido non proteinogenico sintetizzato da vari cianobatteri presenti in ambienti d'acqua dolce, marini e terrestri. Una volta ingerita, la BMAA provoca un danno progressivo ai motoneuroni del midollo spinale, replicando gli effetti neuropatologici osservati nei soggetti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA).

Inoltre, favorisce la formazione di grovigli neurofibrillari nel midollo spinale e nel cervello, simili a quelli presenti nella malattia di Alzheimer.

I cianobatteri sono ampiamente diffusi negli ambienti acquatici e sono noti per la loro capacità di produrre composti neurotossici, inclusi microcistine e BMAA.

Il bioaccumulo di tali tossine nei pesci comporta potenziali rischi per la salute umana, soprattutto attraverso l'esposizione alimentare. L'aumento della frequenza delle fioriture cianobatteriche, aggravato dal cambiamento climatico e dalle attività antropiche, ha sollevato crescenti preoccupazioni riguardo al loro impatto sulla sicurezza alimentare e sulla stabilità degli ecosistemi.

La produzione di pesce d'acqua dolce in Italia è stata stimata in 32.000 tonnellate/anno (7% della produzione totale, anno 2005). Alcuni studi condotti nel nostro Paese hanno indagato la presenza di contaminazioni da cianotossine (principalmente microcistine) in pesci d'acqua dolce commerciali (es. Bogiatti *et al.*, 2005; Bruno *et al.*, 2009), utilizzando differenti metodi immunochimici e strumentali. In uno di questi, 155 campioni di pesci e crostacei raccolti in cinque laghi contaminati sono stati analizzati, mostrando livelli di microcistine da 0,21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  fino a 14,6  $\text{mg}/\text{kg}$  (Bruno *et al.*, 2012; De Pace *et al.*, 2014).

A fronte di fioriture di 100 milioni di cellule/L, la presenza di microcistine negli organi interni e nei muscoli dei pesci è risultata simultanea all'insorgenza della fioritura.

Negli ultimi anni, il ruolo della BMAA come possibile fattore contribuente alla SLA è stato ampiamente indagato e sono emerse evidenze a sostegno di una relazione causale con l'insorgenza della malattia (Banak *et al.*, 2015; Cox *et al.*, 2018; Delcourt *et al.*, 2018; Masseret *et al.*, 2013; Davis *et al.*, 2020). Tale correlazione fu osservata per la prima volta nell'isola di Guam (Oceano Pacifico) nella popolazione locale Chamorro, a causa dell'accumulo di BMAA nella catena alimentare.

La fonte era costituita dai semi e frutti della pianta cycas (*Cycas circinalis*), che ospita cianobatterio simbionte *Nostoc* nelle radici (Cox *et al.*, 2005).

La via di esposizione principale era il consumo di pipistrelli volanti e altri animali selvatici che si nutrivano dei semi di cycas (Cox *et al.*, 2002; Cox *et al.*, 2003). Nell'ecosistema di Guam, la BMAA è stata rilevata in diversi campioni di tessuto di organismi appartenenti a vari livelli trofici (cianobatteri, tessuti e prodotti di cicadi, pipistrelli volanti e tessuti cerebrali di uomini Chamorro deceduti per SLA/*Parkinsonism-Dementia Complex* (PDC), che hanno anche mostrato la biomagnificazione della BMAA dai cianobatteri all'uomo lungo la catena alimentare (Murch *et al.*, 2004a; Murch *et al.*, 2004b).

Il consumo di organismi acquatici e prodotti ittici contaminati rappresenta una potenziale via di esposizione umana alla BMAA (Lage *et al.*, 2015; Faassen *et al.*, 2014). Possibili associazioni tra SLA sporadica e presenza di BMAA negli organismi acquatici sono state rilevate nella Chesapeake Bay (Maryland, USA) (Field *et al.*, 2013) e nella Laguna di Thau (Francia) (Masseret *et al.*, 2013).

Le fioriture cianobatteriche (*cyanobacterial Harmful Algal Blooms*, CHAB) rappresentano una delle principali emergenze ecologiche e sanitarie associate ai cambiamenti climatici e all'eutrofizzazione dei corpi idrici. Temperature più elevate, stratificazione prolungata della

colonna d'acqua, ridotta circolazione e arricchimento in nutrienti, in particolare fosforo e azoto, favoriscono lo sviluppo massivo di specie cianobatteriche potenzialmente tossiche.

In questo contesto, la presenza di composti neurotossici emergenti, quali la BMAA, ha catalizzato l'attenzione della comunità scientifica internazionale.

# 1. BMAA

La BMAA è un amminoacido non proteinoagenico prodotto da diverse classi di microalghe: cianobatteri, diatomee e dinoflagellate. A differenza delle tossine più note quali microcistine, anatoxina-a e cilindrospermopsina, la BMAA non è una molecola singola ma un sistema chimico complesso che esiste in più forme: libera, legata a proteine e carbammata. Questa variabilità strutturale è strettamente correlata ai suoi meccanismi di tossicità e alla sua capacità di bioaccumulo nelle reti trofiche acquatiche.

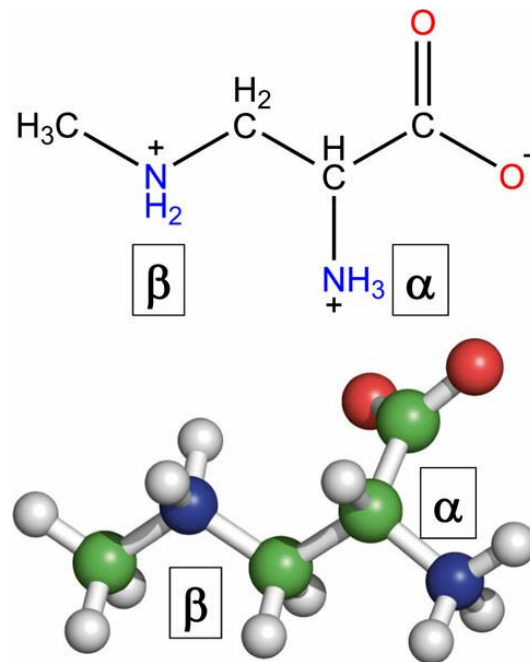


Figura 1. Struttura della BMAA

La BMAA è stata inizialmente identificata nella dieta delle popolazioni Chamorro dell'isola di Guam, con un sospetto legame epidemiologico con una forma endemica di SLA/Parkinsonismo (Bruno & Mizzoni, 2012).

Nel corso dei secoli XVI e XVII, la popolazione Chamorro dell'isola di Guam era stimata tra 60.000 e 100.000 individui, mentre nel 1901 risultava drasticamente ridotta a meno di 10.000.

I primi casi di elevata incidenza di SLA/*Parkinsonism-Dementia Complex* (PDC) furono registrati nel 1904, mentre negli anni '40, in concomitanza con l'occupazione giapponese, si verificò un'epidemia significativa della malattia, localmente denominata *lytico-bodig*.

In una fase iniziale, la malattia si manifestava prevalentemente con sintomi motori analoghi alla SLA (*lytico*); successivamente, si osservò un aumento delle manifestazioni extrapiramidali e cognitive (*bodig*), fino a una predominanza del quadro dementigeno.

Negli ultimi quattro decenni si è registrata una marcata riduzione dell'incidenza e della prevalenza della SLA/PDC (circa 7/100.000), accompagnata da una modificazione del fenotipo clinico, oggi più frequentemente caratterizzato da parkinsonismo e demenza piuttosto che da SLA. Tale andamento suggerisce un'origine ambientale della malattia piuttosto che genetica (Banack, 2010a).

La BMAA è stata isolata per la prima volta da Vega e Bell (1967) nei semi di *Cycas micronesica*, una gimnosperma utilizzata dalla popolazione Chamorro per la produzione di farina alimentare. Inizialmente, i ricercatori ipotizzarono un'analogia con il latirismo e identificarono questo amminoacido non proteico come possibile agente tossico.

La presenza della BMAA nella dieta tradizionale suggerì un possibile ruolo eziologico nella SLA/PDC, ipotesi avanzata già negli anni Cinquanta e successivamente rafforzata dalla dimostrazione della presenza della tossina nei tessuti delle cicadee (Spencer *et al.*, 1987). La BMAA agisce come eccitotossina sui recettori del glutammato ed è in grado di indurre alterazioni neurologiche in modelli animali. Tuttavia, gli effetti osservati nei primati risultavano acuti e non riproducevano la progressione cronica della malattia umana.

L'ipotesi fu successivamente ridimensionata quando si osservò che la farina di cicadea, dopo adeguato lavaggio, conteneva quantità molto basse di tossina. Inoltre, per indurre effetti comparabili a quelli sperimentali, sarebbero necessarie quantità di ingestione non realistiche (Duncan *et al.*, 1990).

Un rinnovato interesse per la BMAA è emerso con l'ipotesi della biomagnificazione lungo la catena alimentare. Cox & Sacks (2002) hanno evidenziato il ruolo dei pipistrelli della frutta (*Pteropus mariannus* e *P. tokudae*), componenti rilevanti della dieta Chamorro, i quali si nutrono di semi di cicadee accumulando elevate concentrazioni di BMAA.

Il declino della popolazione di questi animali è stato messo in relazione con la riduzione dell'incidenza della SLA/PDC, suggerendo un possibile legame tra esposizione alimentare e malattia (Cox, 2006). Tale ipotesi è supportata da dati epidemiologici che evidenziano come la malattia colpisca prevalentemente la popolazione Chamorro e non i residenti non autoctoni, né i migranti da Guam.

La biomagnificazione della BMAA comporta un incremento significativo della concentrazione della tossina lungo i livelli trofici, con valori particolarmente elevati nei pipistrelli e successivamente nei consumatori umani. Nei tessuti cerebrali dei soggetti affetti da SLA/PDC sono state rilevate concentrazioni medie di BMAA pari a 6,6 µg/g, mentre tali livelli risultano assenti nei soggetti deceduti per cause non neurodegenerative (Cox *et al.*, 2003; Cox *et al.*, 2005).

Elevati cluster di incidenza di questa condizione sono stati descritti anche in popolazioni della penisola di Kii in Giappone e della Nuova Guinea occidentale, entrambe geneticamente distinte tra loro e dalla popolazione di Guam, ma che presentano anch'esse un uso documentato di prodotti derivati dalle cicadi, a sostegno di un'eziologia ambientale (Ince & Codd, 2005).

La diffusione così ampia di questa neurotossina, unita alla sua elevata tossicità sta attirando, soprattutto negli ultimi anni, una grandissima attenzione da parte della comunità scientifica internazionale allo scopo di valutare la sua effettiva pericolosità per la salute umana e quindi i rischi connessi, il suo meccanismo d'azione neurotossico, il suo grado di diffusione nell'ambiente terrestre e acquatico (marino e d'acqua dolce) e le sue fonti di esposizione per la popolazione umana (catene alimentari acquatiche e terrestri, rifornimenti idrici per l'acqua potabile o per le attività ricreative acquatiche).

La presenza di BMAA in ambienti lacustri, fluviali e marini è stata documentata in numerosi Paesi. Negli ultimi anni, grazie allo sviluppo di metodiche analitiche più sensibili, la BMAA è stata rilevata anche in sorgenti, acque potabili, aerosol lacustre e biota (pesci, molluschi, crostacei). Alcuni studi hanno indagato sulla possibilità che colture irrigate con acqua contaminata da BMAA possano bioaccumulare questo composto e, sebbene ciò sembri verificarsi in condizioni controllate di laboratorio, l'unico studio che ha condotto un esperimento in campo utilizzando acqua contenente BMAA proveniente da una fioritura cianobatterica non ha rilevato alcuna accumulazione di BMAA nelle verdure irrigate (Contardo-Jara *et al.*, 2014; Contardo-Jara *et al.*, 2018; Esterhuizen-Londt & Pflugmacher, 2019).

Pertanto, il rischio di esposizione alla BMAA associato al consumo di verdure irrigate con acqua contaminata da fioriture di cianobatteri resta tuttora da dimostrare.

I cianobatteri sono diffusi produttori di BMAA, come evidenziato da diversi studi che hanno impiegato metodi analitici altamente selettivi e che hanno confermato la presenza di BMAA in colture cianobatteriche mantenute in laboratorio appartenenti a diversi generi: *Chroococcus*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Synechocystis*, *Myxosarcina*, *Leptolyngbya*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Nostoc* (Banack *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2010; Spáčil *et al.*, 2010; Downing *et al.*, 2011; Berntzon *et al.*, 2013; Combes *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2014; Lage *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2017; Metcalf *et al.*, 2017; Violi *et al.*, 2019). È da notare che alcuni generi come *Anabaena*, *Calothrix*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Leptolyngbya*, *Lyngbya*, *Microcoleus*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Phormidium*, *Symploca*, *Synechococcus* e *Synechocystis*, non producono BMAA (Błaszczuk *et al.*, 2021; Cox *et al.*, 2005; Krüger *et al.*, 2010; Kubo *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010; Reveillon *et al.*, 2014).

La sua potenziale associazione con patologie neurodegenerative, SLA, Alzheimer, Parkinson, ha reso urgente la valutazione del rischio per esposizione cronica, soprattutto alimentare e da inalazione.

Sebbene la letteratura non abbia ancora stabilito un nesso causale definitivo, la crescente evidenza sperimentale suggerisce un ruolo rilevante della BMAA nei processi neurodegenerativi attraverso meccanismi di eccitotossicità e *misfolding* proteico.

In Europa e in Italia, l'aumento delle segnalazioni coincide con condizioni ambientali favorevoli alla proliferazione di cianobatteri, in particolare nei laghi a stratificazione stabile e negli invasi artificiali.

## 1.1. Possibile relazione tra BMAA e SLA/PDC

Il complesso SLA/PDC rappresenta un insieme di patologie neurodegenerative caratterizzate da manifestazioni cliniche sovrapponibili alla SLA, al morbo di Parkinson e al morbo di Alzheimer. Tale complesso patologico mostra un'incidenza particolarmente elevata nella popolazione Chamorro dell'isola di Guam (Pacifico occidentale), risultando da 50 a 100 volte superiore rispetto a quella osservata negli Stati Uniti negli anni '50.

Inoltre, l'età media di insorgenza nei soggetti di Guam risulta significativamente inferiore (circa 55 anni rispetto ai 70 anni delle popolazioni statunitensi).

Tra la fine degli anni '40 e l'inizio degli anni '50, nell'isola di Guam è stata documentata un'incidenza eccezionalmente elevata di una forma di SLA ad esordio tardivo, associata a segni extrapiramidali e deterioramento cognitivo, configurando il quadro clinico della SLA/PDC. Ulteriori cluster epidemiologici sono stati descritti nella penisola di Kii (isola di Honshu, Giappone) e nel sud-est della Nuova Guinea, sebbene la maggior parte degli studi si sia concentrata sul caso di Guam.

Dal punto di vista clinico, la SLA/PDC può manifestarsi come una sindrome demenziale progressiva associata a segni parkinsoniani extrapiramidali oppure come una patologia del motoneurone simile alla SLA; più raramente si osserva la concomitanza dei due fenotipi.

Sul piano neuropatologico, la descrizione classica evidenzia la presenza di grovigli neurofibrillari (*Neurofibrillary Tangles*, NFT) in assenza di significativi depositi amiloidi tipici del morbo di Alzheimer.

Studi più recenti definiscono questa condizione come una "taupatia" caratterizzata dalla presenza combinata delle isoforme tau 3R e 4R, suggerendo una continuità con altri spettri di malattie neurodegenerative (Ince&Codd, 2005).

Le classificazioni più recenti tendono a basarsi su criteri biologici piuttosto che esclusivamente istopatologici. In tale prospettiva, tutte le forme di SLA/PDC risultano accomunate da una taupatia diffusa, associata ad atrofia corticale, perdita neuronale e ampia distribuzione di NFT nel sistema nervoso centrale, analogamente a quanto osservato nella malattia di Alzheimer.

Tuttavia, la distribuzione neocorticale dei NFT presenta analogie anche con patologie più rare, quali la paralisi sopranucleare progressiva (*Progressive Supranuclear Palsy*, PSP).

Inoltre, è stata documentata la presenza di aggregati di  $\alpha$ -sinucleina, tipici dei corpi di Lewy, nella substantia nigra e nell'amigdala di pazienti affetti da SLA/PDC di Guam. Non è ancora chiarito se la coesistenza di patologie tau e  $\alpha$ -sinucleina all'interno degli stessi neuroni sia il risultato di un evento casuale o di un'interazione patogenetica reciproca (Papapetropoulos, 2007). Le evidenze relative a inclusioni di sola ubiquitina risultano limitate, mentre la componente parkinsoniana non sembra riconducibile direttamente alla malattia a corpi di Lewy.

Le principali ipotesi eziopatogenetiche attualmente considerate attribuiscono un ruolo rilevante a fattori ambientali, con particolare attenzione alla BMAA.

## 1.2. Caratteristiche chimiche e meccanismi di neurotossicità

La neurotossicità della BMAA è dipendente dalla concentrazione, e ciò significa che concentrazioni alte e basse possono presentare diversi meccanismi d'azione.

Una concentrazione relativamente bassa (0,3 mM) può causare un danno preferenziale ai neuroni vulnerabili agli agonisti dei recettori del glutammato non-NMDA (non-N-metil-D-aspartato), suggerendo che la degenerazione del sistema motorio associata all'assorbimento di BMAA possa essere mediata principalmente dalla dannosa attivazione dei recettori non-NMDA.

Diversi studi sulle potenzialità neurotossiche della BMAA hanno rivelato differenti meccanismi plausibili di azione:

- *Effetto sinergico con metalli pesanti*  
Alluminio, mercurio e ferro aumentano drasticamente la tossicità della BMAA. È associato a malattie neurodegenerative come la SLA e il complesso demenza-parkinsonismo. È degno di nota che la presenza di metalli associati alla neurotossicità sia stata riportata nel suolo e nell'acqua delle regioni del Pacifico occidentale, dove un cluster ad alta incidenza di malattie neurodegenerative, il cosiddetto complesso SLA/PDC, ha inizialmente suscitato l'interesse per la BMAA come possibile fattore di neurotossicità (Garruto *et al.*, 1986).
- *Eccitotossicità glutammatergica sui neuroni del sistema nervoso centrale, sia in vitro che in vivo*  
La BMAA interagisce con recettori NMDA, AMPA (acido  $\alpha$ -ammino-3-idrossi-5-metil-4-isossazol-propionico) e mGluR (recettore metabotropico del glutammato), può imitare il glutammato legandosi ai suoi recettori, come NMDA(N-metil-D-aspartato), AMPA e mGluR, causando flussi ionici disregolati (es.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), depolarizzazione prolungata dei neuroni, sovraccarico intracellulare di calcio e attivazione di vie apoptotiche e causare danno neuronale (Ross *et al.*, 1987).
- *Stress ossidativo e danno mitocondriale*  
Induzione di ROS (*Reactive Oxygen Species*, specie reattive all'ossigeno) e alterazione del metabolismo energetico neuronale.  
Negli studi animali, come quelli di Spencer *et al.* (1987) la somministrazione orale ripetuta di L-BMAA ai macachi (*Macaca fascicularis*) ha portato a comportamenti

neurodegenerativi e a istopatologia del sistema nervoso centrale, effetti parzialmente reversibili con antagonisti del recettore NMDA. Tuttavia, non tutti gli studi sono coerenti: alcune ricerche sull'esposizione alimentare a BMAA nei topi non hanno rivelato effetti comportamentali o patologici significativi (Cruz-Aguado *et al.*, 2006; Perry *et al.*, 1989). Nei ratti trattati tramite iniezioni intracerebroventricolari di BMAA sono state osservate temporanee alterazioni motorie e disfunzioni corticali, attribuite alla sovra-attivazione dei recettori AMPA (Rakonczay *et al.*, 1991). La BMAA ha inoltre mostrato citotossicità in colture di neuroni corticali, con antagonisti NMDA come D-APV capaci di attenuarne gli effetti (Weiss *et al.*, 1989).

Bassi dosaggi di BMAA (es. 0,3 mM) hanno colpito selettivamente neuroni vulnerabili attraverso meccanismi non NMDA. La BMAA si è dimostrata in grado di danneggiare selettivamente i motoneuroni spinali in coltura attraverso vie di recettori AMPA/kainato, come confermato dall'inibizione tramite NBQX (2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline – un antagonista selettivo dei recettori ionotropici del glutammato AMPA e kainato, ampiamente utilizzato in studi di neurofisiologia e neurotossicologia per bloccare la trasmissione eccitatoria mediata dal glutammato) (Rao *et al.*, 2006).

Aumenta inoltre  $Ca^{2+}$  intracellulare e ROS preferenzialmente nei motoneuroni; mentre i bloccanti NMDA riducono la tossicità, una protezione completa richiede antagonisti mGluR5 e antiossidanti (Lobner *et al.*, 2007).

– *Misincorporazione nelle proteine*

La BMAA può sostituire la serina durante la sintesi proteica e causare stress del reticolo endoplasmatico.

Oltre al legame ai recettori, la BMAA può essere erroneamente incorporata nelle proteine emergenti come analogo della serina, intralciando il corretto ripiegamento e favorendo l'aggregazione proteica, caratteristica distintiva delle malattie neurodegenerative (Dunlop *et al.*, 2013; Albano *et al.*, 2018). L'idrolisi acida rivela BMAA legata ai tessuti, a supporto della teoria della misincorporazione. La L-serina ha mostrato potenzialità terapeutiche nel contrastare i danni indotti da BMAA sia in vitro che in vivo (Main *et al.*, 2018).

La Tabella 1 riassume gli effetti neurotossici della BMAA riportati nei diversi studi in letteratura (Lopicic *et al.*, 2022).

Sebbene le malattie neurodegenerative costituiscano un gruppo eterogeneo di disturbi, ciascuno dei quali colpisce unità anatomiche o funzionali diverse all'interno del sistema nervoso, molte condividono processi patogenetici comuni: *misfolding* e aggregazione proteica; alterazioni della proteostasi; danno mitocondriale e stress ossidativo; attivazione microgliale e infiammazione cronica; e disfunzioni della trasmissione sinaptica (Figura 2).

La BMAA mostra tossicità neurogenica, con effetti più gravi in presenza di induttori di radicali liberi, che può avere effetti a lungo termine anche sullo sviluppo. L'esposizione neonatale a BMAA in ratti ha causato anomalie comportamentali e deposizione di  $\beta$ -amiloide.

Dosi di 50 mg/kg di BMAA hanno portato a perdite neuronali nell'ippocampo degli adulti (Karlsson *et al.*, 2015).

Studi comportamentali condotti sulle api mellifere hanno evidenziato una ridotta capacità di apprendimento e un aumento della mortalità dopo esposizione a BMAA, con ROS e squilibri del calcio considerati fattori determinanti (Okle *et al.*, 2013a).

Inoltre, la BMAA inibisce l'attività della catalasi e la sintesi della melatonina, probabilmente attraverso la modulazione dei recettori mGluR3 e vie di protein chinasi C, suggerendo ulteriori meccanismi di tossicità (Pierozan *et al.*, 2018).

Tabella 1. Studi sperimentali principali sugli effetti neurotossici della BMAA per tipologia

Categoria	Specie / Via Modello	Dose	Durata	Effetto principale	Meccanismo patogenetico	Rif.
<b>Studi di tipo <i>in vivo</i></b>						
ALS-like	Ratto SD maschio	i.v.	300 mg/kg	3 gg + follow-up	Tau, TDP-43, infiammazione, perdita assonale	Proteinopatia/neuro-infiammazione/demielinizzazione Karlsson <i>et al.</i> , 2009
ALS-like	Ratto Wistar maschio	i.p.	100-350 mg/kg/die	5 gg + 90 gg	Caspase-3, TDP-43, GSK3 $\beta$	Apoptosi/proteinopatia Karlsson <i>et al.</i> , 2010
Parkinson-like	Ratto Sprague Dawley	i.c.v.	10-400 $\mu$ g	1 sett.	Lesione substantia nigra, perdita TH+	Degenerazione dopaminergica Karlsson <i>et al.</i> , 2011
Parkinson-like	Ratto Sprague Dawley	i.c.v.	500 $\mu$ g/die	16-60 gg	Rigidità, tremori, iperattività	Eccitotossicità/danno SNC Spencer <i>et al.</i> , 1987
Alzheimer-like	Vervet	orale	21-210 mg/kg/die	140 gg	NFT e depositi $\beta$ -amiloide	Taupatia/agggregazione proteica Cox <i>et al.</i> , 2016
Neurosviluppo	Zebrafish	i.p.	16.3 $\mu$ g	0-15 gg	Deficit memoria breve termine	Disfunzione cognitiva Karlsson <i>et al.</i> , 2009
Neurosviluppo	Ratto Wistar	s.c.	50-600 mg/kg	PND 9-10 gg fino a 28 sett.	Apoptosi ippocampo e deficit memoria	Apoptosi/ sviluppo neuronale Karlsson <i>et al.</i> , 2015
<b>Studi di tipo <i>in vitro</i></b>						
Cellule neurali	Topo C57BL/6J	Intra-craniale /coltura	100 mM	24 h	Morte neuroni ippocampali	Eccitotossicità Lobner <i>et al.</i> , 2007
Cellule gliali	SH-SY5Y	coltura	1-3 mM	24-48 h	Stress ER, apoptosi	UPR/MAPK La BMAA induce stress ER con attivazione della risposta UPR e progressione verso apoptosi cellulare Liu <i>et al.</i> , 2010
Cellule gliali	Astrociti umani	coltura	0,1-1000 $\mu$ M	1-24 h	ROS, LDH release	Stress ossidativo / Ca <sup>2+</sup> Main <i>et al.</i> , 2015

i.v.: *intravenosa*i.p.: *somministrazione intraperitoneale*s.c.: *somministrazione sottocutanea*i.c.v.: *somministrazione intracerebroventricolare*gg: *giorni*sett.: *settimana/e*NFT: *Neurofibrillary Tangles*TH+: *Tyrosine Hydroxylase positive*TDP-43: *TAR DNA-binding protein 43*PND: *Postnatal Day*ER: *Endoplasmic Reticulum*UPR: *Unfolded Protein Response*MAPK: *Mitogen Activated Protein Kinase*ROS: *Reactive Oxygen Species*LDH release: *Lactate Dehydrogenase release*

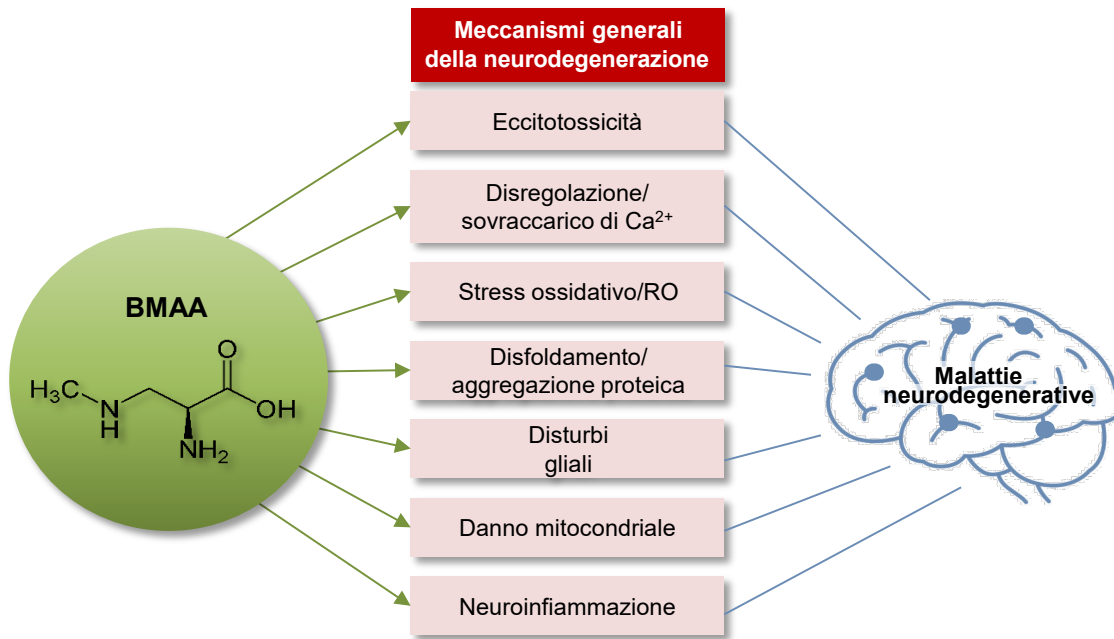


Figura 2. BMAA e meccanismi generali di neurodegenerazione

Un'esposizione dietetica prolungata alla BMAA può causare la formazione di grovigli neurofibrillari e depositi di amiloide nel cervello dei cercopitechi, fenomeni associati a malattie neurodegenerative (Cox *et al.*, 2016). Inoltre, la neurotossicità della BMAA è stata osservata in altri animali, come ratti, topi, zebrafish e in cellule di origine animale o umana (Karamyan & Speth, 2008; Martin *et al.*, 2021; Pierozan *et al.*, 2020).

Nei modelli murini wild-type trattati con BMAA è stato evidenziato un significativo consumo dei batteri filamentosi segmentati (*Segmented Filamentous Bacteria*, SFB), coinvolti nella modulazione dell'immunità intestinale. Inoltre, esperimenti condotti su colture neuronali primarie, linee cellulari e mitocondri isolati hanno mostrato che la BMAA induce disfunzione mitocondriale neuronale, osservabile sia *in vitro* sia *in vivo*, con esposizione della cardiolipina e conseguente attivazione dell'immunità innata neuronale (Esteves *et al.*, 2023).

Nelle cellule di neuroblastoma umano SH-SY5Y, la BMAA a bassa concentrazione (0,1-1 mM) può causare alterazioni funzionali di alcuni amminoacidi o proteine intracellulari, portando a una disregolazione dell'omeostasi proteica e a stress del reticolo endoplasmatico (*Endoplasmic Reticulum*, ER) (Okle *et al.*, 2013).

Per quanto riguarda gli animali acquatici, il pesce zebra (*Danio rerio*) è stato spesso utilizzato come organismo modello per studiare la tossicità della BMAA (Purdie *et al.*, 2009). L'esposizione alla BMAA negli stadi larvali di zebrafish ha determinato un aumento dose-dipendente della mortalità, difetti morfologici, alterazioni del comportamento locomotorio e una maggiore sensibilità allo stimolo acustico di *startle* (Martin *et al.*, 2021).

L'esposizione a BMAA in organismi come *Isochrysis galbana* e *Synechocystis* PCC6803 ha portato a una significativa inibizione della crescita cellulare e alterazioni nei parametri fotosintetici (Downing *et al.*, 2012). In *Arabidopsis*, l'esposizione a BMAA ha aumentato l'allungamento dell'ipocotile di 2-3 volte (Brenner *et al.*, 2000).

Nelle piante acquatiche, la BMAA (10 e 100 µg/L) può indurre risposte di stress ossidativo in *Lomariopsis lineata*, *Fontinalis antipyretica*, *Riccia fluitans* e *Taxiphyllum barbieri*, ma non ha causato danni fisiologici gravi dopo 14 giorni di esposizione (Contardo-Jara *et al.*, 2013).

Nelle piantine della coltura foraggera erba medica (*Medicago sativa*), la BMAA ha inibito significativamente la crescita delle radici, mentre ha avuto un effetto minore sui germogli (Samardzic *et al.*, 2020).

In colture stabili di cellule immunitarie di pesce, concentrazioni relativamente elevate (1,5 e 2 mM) di BMAA hanno causato cambiamenti nella morfologia, danneggiato l'integrità della membrana cellulare e ridotto la vitalità cellulare (Sieroslawska & Rymuszka, 2019).

BMAA ha effetti negativi sullo sviluppo embrionale di organismi marini come *Mytilus galloprovincialis* e *Oryzias melastigma* (Fu *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2024).

La neurotossicità della BMAA è sia dello sviluppo sia cronica. Oltre a un semplice trasferimento da madre a prole negli animali (es. uova o latte) o nelle piante (es. semi), i cambiamenti indotti dalla BMAA nelle cellule staminali neurali possono essere ereditati da una generazione cellulare alle cellule figlie e possono essere evidenti anche a concentrazioni più basse.

Un'esposizione precoce durante il periodo embrionale o neonatale può indurre uno sviluppo anomalo nell'infanzia o nell'età adulta (Karlsson *et al.*, 2012).

L'esposizione embrionale alla BMAA ha influenzato negativamente il primo sviluppo neuronale nelle larve e la progressione della neurodegenerazione negli adulti di zebrafish (*D. rerio*), evidenziata da una diminuzione della resistenza al nuoto e da una maggiore suscettibilità alla fatica (Powers *et al.*, 2017).

Studi sui roditori hanno mostrato il legame tra esposizione neonatale sottocutanea alla BMAA e neurodegenerazione. Lo sviluppo cerebrale di un feto umano può essere approssimato a quello di un ratto neonatale nei PND 3, 4 e 5.

L'esposizione a 50 mg/kg di BMAA al PND 3 ha indotto lievi anomalie comportamentali a breve termine e deposizione di β-amiloide insieme a perdita neuronale nell'ippocampo di ratti adulti; tali anomalie istopatologiche e deficit comportamentali sono diventati più evidenti con l'aumentare della concentrazione di BMAA (Scott & Downing, 2019).

Massivi cambiamenti neurodegenerativi, inclusi formazione di fibrille intracellulari, calcificazione, astrogliosi, attivazione microgliale e neurodegenerazione, si sono verificati nell'ippocampo di ratti adulti dopo esposizione neonatale alla BMAA, e questi effetti sono diventati progressivamente più gravi con l'età (Karlsson *et al.*, 2015). Sezioni cerebrali di 21 ratti sono state analizzate tramite MALDI-IMS (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Imaging Mass Spectrometry*) dopo esposizione neonatale a diverse dosi di BMAA, e i risultati hanno mostrato alterazioni proteiche striatali a lungo termine negli adulti (Karlsson *et al.*, 2014).

Moscerini della frutta (*Drosophila melanogaster*) sono stati esposti alla BMAA durante lo sviluppo per valutare la neurotossicità dello sviluppo (*Developmental NeuroToxicity*, DNT) tramite analisi cinematica.

La BMAA (0,5-50 µM) ha indotto disfunzioni motorie nei giovani adulti senza casi letali e ha causato anomalie nello sviluppo delle proiezioni dei motoneuroni delle zampe (Cabrita *et al.*, 2022).

Diversamente dagli studi precedenti con esposizione diretta durante lo sviluppo, un'esposizione cronica (2,5 anni) a bassa concentrazione (0,1 mM) di BMAA attraverso il cibo negli zebrafish ha portato a bassi livelli di accumulo nel cervello, senza osservare differenze nei fenotipi associati a malattie degenerative (Weeks *et al.*, 2023).

Il danno causato dalla BMAA mostra segni di recupero in alcuni casi. Quando gli emociti di *Dreissena polymorpha* sono stati esposti alla BMAA, l'attività fagocitica non è risultata significativamente compromessa, ma sono comparsi danni evidenti al DNA e un aumento della mortalità (Lepoutre *et al.*, 2018). Tuttavia, questi due cambiamenti significativi non sono persistiti

per tutta la durata dell'esposizione, nonostante la presenza di BMAA nell'emolinfa, indicando una possibile attivazione di meccanismi di riparazione del DNA (Lepoutre *et al.*, 2018).

Negli esperimenti di esposizione alla BMAA nella microalga marina *I. galbana*, il parametro fotosintetico Fv/Fm ha raggiunto il minimo a 24 ore per poi aumentare gradualmente, suggerendo un recupero precoce della resa quantica del PSII, nonostante la persistenza dell'inibizione della crescita (Li *et al.*, 2023a). Lo stesso andamento è stato osservato nei cambiamenti dei parametri rETRmax e  $\alpha$ , indicando che le funzioni fotosintetiche del PSII possono recuperare dopo il trattamento con BMAA (Li *et al.*, 2023a).

Concentrazioni non citotossiche di BMAA hanno influenzato l'attività spontanea neuronale, astrocitaria e la differenziazione sia nelle cellule staminali neurali esposte sia nelle cellule figlie, evidenziando gli effetti ereditari della BMAA.

Questi effetti di programmazione ereditabile nelle cellule staminali neurali dell'ippocampo, riguardanti l'apoptosi indipendente dalle caspasi e la differenziazione neuronale, supportano l'idea che le esposizioni durante lo sviluppo possano determinare cambiamenti cerebrali duraturi, in linea con precedenti ricerche condotte su ratti e moscerini della frutta (Cabrita *et al.*, 2022; Karlsson *et al.*, 2015).

Sulla base degli studi attuali, la BMAA può ritardare il ciclo cellulare e influenzare la proliferazione cellulare (Pierozan *et al.*, 2020). Una differenza evidente è stata osservata nel tempo di arresto tra cellule neuronali e non neuronali. L'esposizione a 250  $\mu$ M di BMAA ha ridotto la percentuale di cellule in fase G0/1 e aumentato la percentuale di cellule in fase G2/M nelle cellule staminali neurali, indicando un arresto in G2/M (Pierozan & Karlsson, 2019). Tuttavia, la BMAA (1 e 3 mM) ha indotto un arresto G1/S nelle cellule NIH3T3, un tipo di cellule non neuronali, senza causare rottura della membrana plasmatica, apoptosi o sovrapproduzione di ROS (Okamoto *et al.*, 2018).

La concentrazione di 6,5  $\mu$ M di BMAA ha arrestato il ciclo cellulare della microalga marina *I. galbana* nella fase G1, con solo il 15% delle cellule in G1 in grado di completare i processi di replicazione del DNA e mitosi (Li *et al.*, 2023a).

Sebbene le concentrazioni non coincidano completamente tra organismi diversi, sembra esistere una relazione tra il tipo di cellula (neurale o non neurale) e il momento dell'arresto, relazione che richiede ulteriori evidenze in varie linee cellulari.

La tossicità della BMAA nei roditori mostra una dipendenza da sesso ed età di esposizione.

Gli individui maschi si sono dimostrati più sensibili alla tossicità della BMAA rispetto alle femmine (Scott & Downing, 2017a). La prima correlazione tra tossicità della BMAA e sesso è stata individuata da Dawson *et al.*, (1998). Essi hanno osservato che l'esposizione alla BMAA durante il periodo neonatale causava alterazioni nella funzione motoria e nella neurochimica del midollo spinale, correlate sia ai metodi di trattamento sia al sesso.

Un altro studio descrive come i ratti maschi abbiano manifestato una marcata abduzione unilaterale degli arti posteriori in risposta alla BMAA, mentre le femmine mostravano tremori generalizzati (Scott & Downing, 2017b). La tossicità della BMAA è risultata inoltre correlata all'età di esposizione: esposizioni precoci a basse dosi possono essere più dannose di esposizioni tardive a dosi più elevate, come dedotto dal fatto che deficit neurodegenerativi comportamentali, locomotori e cognitivi si manifestavano quando l'esposizione avveniva nei giorni postnatali 3, 4 o 5, ma non al giorno gestazionale 14 né nei giorni postnatali 7 o 10 (Scott & Downing, 2017b).

La BMAA può agire sinergicamente con altri fattori avversi nel causare malattie neurodegenerative. Sebbene concentrazioni abbastanza basse di BMAA non inducano cambiamenti tossicologici significativi, esse possono potenziare il danno neuronale provocato da altri agenti (Lobner *et al.*, 2007).

Evidenti deficit neurologici negli adulti di un modello murino genetico-ambientale della SLA sono comparsi dopo esposizione cronica a basse dosi di BMAA; tali effetti non erano presenti né

nel solo modello genetico (mutazione TDP-43 della SLA) né nella sola esposizione a BMAA (Arnold *et al.*, 2023).

Nel complesso, la neurotossicità della BMAA coinvolge molteplici meccanismi, inclusi – ma non limitati a – tossicità eccitatoria, misincorporazione e stress ossidativo. Tale neurotossicità può accompagnare i processi di crescita e sviluppo e persino essere trasmessa alla generazione successiva. Negli ultimi anni, alcuni studi hanno tentato di eliminare la BMAA dall'acqua mediante trattamenti di clorazione, UV/cloro e ozono (Sun *et al.*, 2021; Yan *et al.*, 2023).

In acqua pura si possono ottenere elevate percentuali di rimozione, ma rimangono problemi applicativi quali la formazione di numerosi sottoprodotti e scarse prestazioni in acqua naturale.

Le forme legate della BMAA possono essere classificate in due tipi: legata solubile e legata precipitata. La forma legata della BMAA fu proposta per la prima volta da Bell e colleghi nel 1972, quando la BMAA fu rilevata sia in forma libera sia legata nei semi e nelle foglie di tutte le specie di *Cycas* analizzate; si ipotizzò che la BMAA potesse legarsi probabilmente a un composto di bassissimo peso molecolare (Dossaji & Bell, 1973).

Dopo alcuni anni, Murch *et al.*, pubblicarono articoli che documentavano la presenza di BMAA nei tessuti cerebrali di pazienti con SLA/PDC e ipotizzavano l'esistenza di un serbatoio corporeo di BMAA capace di produrre esposizioni continue tali da causare disturbi neurodegenerativi (Cox *et al.*, 2003; Murch *et al.*, 2004).

Nel 2004, la BMAA fu rilevata sia in forma libera sia legata in vari organismi dell'ecosistema di Guam (Murch *et al.*, 2004). Progressivamente, la forma legata precipitata è stata riconosciuta come rilevante nell'analisi della BMAA. Tuttavia, la forma legata solubile è spesso trascurata, salvo nei casi in cui si determini la BMAA totale mediante idrolisi diretta con HCl.

Ad oggi, gli studi hanno confermato l'esistenza di forme legate della BMAA, ma non sono riusciti a fornire prove dirette dell'identità dei composti a cui essa si lega come precursori, fatta eccezione per un peptide idrosolubile, la galantina I, che però non è più stato rilevato in studi successivi (Sakai & Ohfuné, 1990; Shoji *et al.*, 1975).

Nel complesso, tali risultati indicano che la neurotossicità della BMAA deriva da un'interazione complessa tra eccitotossicità, stress ossidativo, iperstimolazione recettoriale e *misfolding* proteico – meccanismi con importanti implicazioni per la ricerca sulle malattie neurodegenerative (Li *et al.*, 2024). Negli ultimi anni, alcuni studi hanno tentato di rimuovere la BMAA dall'acqua attraverso processi di clorazione, UV/cloro e ozonizzazione (Sun *et al.*, 2021; Yan *et al.*, 2023). È possibile ottenere elevate percentuali di eliminazione in acqua pura, ma nell'applicazione pratica emergono diversi problemi, come la formazione di numerosi sottoprodotti e le scarse prestazioni in acque naturali.

### 1.3. Studi sugli ecosistemi e biomagnificazione

La presenza di BMAA nelle fioriture di cianobatteri e in altre matrici è stata controversa (Kruger *et al.*, 2012, Faassen *et al.*, 2014). L'esistenza di almeno tre isomeri naturali – l'acido 2,4-diaminobutirrico (DAB), la N-2-amminoetil-glicina (AEG) e l'ammino-N-metil-alanina (BAMA) – può contribuire in parte alla controversia sul BMAA e ha evidenziato la necessità di metodi altamente selettivi per identificare e quantificare in modo inequivocabile il BMAA rispetto ai suoi isomeri. Il DAB è un isomero neurotossico del BMAA (Kruger *et al.*, 2012), individuato per la prima volta nei cianobatteri nel 2008 (Rosen *et al.*, 2008) ma ampiamente riportato anche in procarioti ed eucarioti (Banack *et al.*, 2010).

La tossicità di questi due isomeri non è ancora stata studiata, in particolare per l'AEG. Finora, due lavori hanno riportato la presenza di BMAA nelle cianobatterie mediante metodi selettivi MS/MS utilizzando la derivatizzazione dei campioni (Jiang *et al.*, 2012, Berntzon *et al.*, 2013).

L'esposizione alla BMAA può avvenire attraverso le stesse vie note per altre cianotossine: mediante l'acqua potabile (es. quando si verifica uno sviluppo massivo di cianobatteri in un serbatoio di acqua potabile), durante attività ricreative (come nuoto, canoa o balneazione), attraverso la rete trofica acquatica, piante e animali terrestri e integratori alimentari (Manolidi *et al.*, 2018, Courtier *et al.*, 2022, Drobac *et al.*, 2013 Lance *et al.*, 2018).

È stato dimostrato che la BMAA non è prodotta direttamente dalle cicadee, ma dai cianobatteri simbiotici del genere *Nostoc*, presenti nelle radici coralloidi. Questi microrganismi producono quantità variabili di tossina, maggiori in condizioni di simbiosi rispetto alla vita libera.

La scoperta della BMAA in tessuti cerebrali di pazienti affetti da Alzheimer in Canada ha suggerito una distribuzione più ampia della tossina, indipendente dalla presenza delle cicadee. Studi successivi hanno evidenziato la produzione di BMAA in numerose specie di cianobatteri, sia simbiotici sia a vita libera, appartenenti a tutte le principali sezioni morfologiche.

In particolare, Cox *et al.* (2005) hanno rilevato la presenza della BMAA nel 73% dei ceppi di *Nostoc* simbiotici, in oltre il 95% dei generi di cianobatteri a vita libera e nel 97% dei ceppi complessivamente analizzati. Considerata la distribuzione ubiquitaria dei cianobatteri negli ambienti terrestri e acquatici, tale evidenza conferisce alla BMAA un potenziale significato ecologico ed evolutivo rilevante, suggerendo un possibile coinvolgimento globale nelle malattie neurodegenerative.

Sintetizzata da cianobatteri e microalghe, la BMAA viene trasportata attraverso alcune reti trofiche negli ecosistemi acquatici, dallo zooplankton e dagli invertebrati bentonici ai pesci planctivori, molluschi, lumache e crostacei, fino ai pesci carnivori e ai mammiferi.

Il contatto umano con la BMAA è possibile attraverso tutti questi comparti della rete trofica negli ecosistemi acquatici.

Negli ecosistemi terrestri, la BMAA può essere presente in alcune simbiosi tra cianobatteri e piante superiori, ma può anche essere trasferita dagli ecosistemi acquatici a quelli terrestri tramite irrigazione. Come conseguenza dell'irrigazione con acqua contaminata da BMAA, questa può accumularsi nei tessuti vegetali e quindi raggiungere animali ed esseri umani.

Il potenziale carico di esposizione collettiva attraverso i diversi gruppi di organismi potrebbe contribuire a spiegare le elevate concentrazioni di BMAA (fino a 350 µg/g) rilevate nei tessuti cerebrali di alcuni pazienti deceduti per SLA/PDC e malattia di Alzheimer (Cox *et al.*, 2003, Murch *et al.*, 2004, Pablo *et al.*, 2009).

Come mostrato nella Figura 3, la BMAA e/o i suoi isomeri sono stati rinvenuti in tutto il mondo e scenari di esposizione, sia tramite acqua potabile contaminata sia attraverso il consumo di alimenti contaminati, sono presenti nella maggior parte delle regioni del pianeta.

Esistono chiaramente alcuni hotspot di presenza della BMAA: parti dell'Europa, degli Stati Uniti e della Cina, così come alcune isole, tra cui Guam. Il maggior numero di segnalazioni riguarda i Paesi europei, il che potrebbe indicare un'intensa attività di ricerca sull'argomento in quella regione. L'assenza di segnalazioni provenienti, ad esempio, dalla maggior parte dei Paesi africani, asiatici e sudamericani probabilmente non indica l'assenza di BMAA e dei suoi isomeri in tali aree, ma piuttosto che questi territori non sono stati indagati in modo approfondito come, per esempio, i Paesi dell'Europa occidentale.

La situazione della BMAA è simile a quella della cilindrospermopsina, che in un primo momento si riteneva fosse una tossina tropicale. In generale, la cilindrospermopsina è stata trovata nella maggior parte dei Paesi in cui è stata cercata con sufficiente attenzione, e questo è probabilmente anche lo scenario per la BMAA.

Secondo la mappa mostrata, la BMAA e anche i suoi isomeri sono frequentemente rilevati nelle regioni in cui sono state effettuate analisi.



**Figura 3. Distribuzione geografica della BMAA e dei suoi isomeri**

Presupponendo una solidità metodologica, la BMAA e i suoi isomeri risultano quindi presenti nella maggior parte delle aree del mondo, e di conseguenza esistono potenziali scenari di esposizione in molti Paesi. Questa esposizione si rifletterebbe nell'incidenza delle malattie neurodegenerative qualora la BMAA fosse considerata un fattore causale di tali patologie e i livelli di esposizione fossero sufficientemente elevati.

Allo stesso modo, l'incidenza delle malattie neurodegenerative aumenterebbe in seguito all'esposizione alla BMAA anche se quest'ultima fosse considerata solo un fattore contribuyente, in presenza di altri fattori di rischio nelle aree investigate (Ferrante *et al.*, 2020).

Se l'esposizione alla BMAA in condizioni naturali abbia realmente un effetto sull'incidenza delle malattie neurodegenerative deve essere dimostrato e confermato da studi epidemiologici.

L'ingestione intenzionale e quella accidentale sono vie di esposizione più rilevanti rispetto al contatto cutaneo o all'inalazione. Per queste ragioni, sarebbe ragionevole ritenere che la via più comune di esposizione alla BMAA sia quella orale.

Il consumo di organismi acquatici e frutti di mare contaminati rappresenta una possibile via di esposizione umana al BMAA. Sono state ipotizzate potenziali associazioni tra casi sporadici di SLA e la presenza di BMAA negli organismi acquatici nella Chesapeake Bay, Maryland, USA (Field *et al.*, 2008) e nella laguna di Thau, Francia (Masseret *et al.*, 2013) mediante metodi che utilizzano la derivatizzazione degli analiti.

Jonasson *et al.*, (2010) hanno rilevato che lo zooplancton, che si nutre naturalmente di cianobatteri, contiene livelli chiaramente più alti di BMAA rispetto ai produttori stessi.

Inoltre, vari tessuti di pesci analizzati presentavano concentrazioni fino a 200 volte superiori a quelle dei cianobatteri. I risultati ottenuti in questo studio nel Mar Baltico hanno rivelato, per la prima volta, che il BMAA è stato biotrasferito in un ecosistema acquatico al di fuori di Guam.

Il Mar Baltico non è l'unica fonte di pesce commerciale in Svezia, un Paese che comprende numerosi laghi, alcuni dei quali tra i più grandi d'Europa. Nel Mar Baltico la BMAA è stata rilevata in diverse specie ittiche commerciali, sollevando la questione della bioaccumulazione di questa tossina nei sistemi lacustri svedesi. Nello studio di Jonasson *et al.*, (2010), è stata evidenziata la presenza di BMAA in campioni d'acqua del Lago Finjasjön e sono stati identificati

modelli di bioaccumulazione sia nei pesci planctivori/bentivori sia in quelli piscivori, in relazione alla specie, al peso totale, al sesso e alla stagione di cattura.

Per la prima volta, un elevato numero di pesci è stato utilizzato per trarre conclusioni sulla bioaccumulazione del BMAA in una comunità ecologica chiusa sulla base di un approccio statistico.

Si può concludere che le abitudini alimentari (planctivore/bentivore) e l'aumento dell'età dei pesci possono portare a una maggiore concentrazione di BMAA nei tessuti.

Il possibile collegamento tra BMAA e l'insorgenza di malattie neurodegenerative, insieme all'identificazione di questa cianotossina negli organismi acquatici, ha stimolato la ricerca sul potenziale rischio di esposizione umana associato al consumo di prodotti alimentari provenienti da corpi idrici eutrofici in tutto il mondo.

Nello studio di Clausi *et al.* (2016), il metodo ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) per la rilevazione di BMAA sia nell'acqua sia nel tessuto dei pesci è stato validato e indicato come un sistema semplice, rapido e più economico per il monitoraggio di questa pericolosa tossina. In tale lavoro, l'estrazione del tessuto dei pesci è stata effettuata utilizzando TCA (acido tricloroacetico) 0,1N, quindi il campione è stato sottoposto a *clean-up* (cartuccia Water-Oasis 6 cc) per eliminare la soluzione acida e purificato per evitare l'interferenza di un basso pH nel test ELISA.

Nello studio condotto nella Laguna di Thau (Francia meridionale), le concentrazioni totali di BMAA nei mitili sono aumentate nel tempo durante l'estate 2009, mentre nelle ostriche sono rimaste più stabili. Le concentrazioni totali dell'isomero DAB erano simili in entrambe le specie: 3,4-9,7 µg/g (peso secco) nei mitili e 3,3-8,8 µg/g nelle ostriche.

Per quanto riguarda la BMAA, le concentrazioni dell'isomero AEG nei mitili sono aumentate tra il 20 giugno e il 7 settembre. Una maggiore accumulazione di BMAA e dei suoi isomeri nei mitili potrebbe essere attribuita alla loro più elevata attività filtrante (Masseret *et al.*, 2013)

Durante l'estate 2009 nella Laguna di Thau si sono verificate due fioriture di fitoplancton dominate da diatomee (es. *Chaetoceros* spp.) in luglio e agosto (Pernet *et al.*, 2012) Di recente, alcune diatomee sono state individuate come potenziali produttrici di BMAA (Jiang *et al.*, 2014), suggerendo che la proliferazione di tali microalghe – insieme a picocianobatteri – possa spiegare la presenza di BMAA nei molluschi.

Nel Mar Baltico, le fioriture estive (giugno-agosto) sono tipicamente dominate dai generi *Nodularia* e *Aphanizomenon*, entrambi capaci di produrre BMAA (Cox *et al.*, 2005; Degerholm *et al.*, 2006; Jonasson *et al.*, 2010). Fioriture di diatomee avvengono invece in primavera. Jonasson *et al.* hanno riportato che lo zooplancton, che si nutre naturalmente di cianobatteri, conteneva livelli di BMAA significativamente superiori a quelli dei cianobatteri stessi.

Inoltre, vari tessuti ittici presentavano concentrazioni fino a 200 volte superiori rispetto ai produttori originali. Ciò ha rappresentato la prima evidenza di biomagnificazione della BMAA in un ecosistema acquatico al di fuori di Guam.

Mentre il Mar Baltico fornisce gran parte del pesce commerciale svedese, la Svezia ospita numerosi laghi. La BMAA, rilevata in pesci commerciali del Baltico, ha sollevato preoccupazioni sulla possibilità di un bioaccumulo anche nei sistemi lacustri. Nel lago Finjasjön, la presenza di BMAA è stata confermata sia nell'acqua sia nei pesci planctivori/bentivori e piscivori (Lage *et al.*, 2014).

Le analisi hanno mostrato che il comportamento alimentare (planctivoro/bentivoro) e l'età del pesce sono associati a maggiori concentrazioni tissutali di BMAA. Specie come *Aphanizomenon klebahnii*, già nota come produttrice di BMAA (Cox *et al.*, 2005), è stata considerata una probabile fonte nel periodo di campionamento. Tuttavia, altre microalghe – come *Ceratium hirundinella*, *Cryptomonas* spp., *Fragilaria crotonensis* e *Asterionella formosa* (Annadotter *et al.*, 2011) – potrebbero contribuire alla presenza di BMAA (Violi *et al.*, 2019).

Due delle concentrazioni più elevate sono state osservate nel cervello di esemplari femmine di *Perca fluviatilis* di circa 200 g, presumibilmente individui più vecchi. Tali livelli probabilmente riflettono un'esposizione cumulativa tramite prede contaminate.

Il peso corporeo è risultato significativamente associato alle concentrazioni di BMAA: pesci più grandi e anziani presentavano livelli più elevati.

In generale, nei campioni muscolari le concentrazioni risultavano più basse e meno frequenti rispetto al cervello.

Le concentrazioni rilevate nel lago Finjasjön erano comparabili a quelle del Mar Baltico, ma inferiori a quelle di acque costiere della Florida meridionale e del Lago Taihu (Cina) (Mondo *et al.*, 2014; Jiao *et al.*, 2014). Tale variabilità potrebbe riflettere differenze biologiche e metodologiche tra gli studi.

La rilevazione simultanea di BMAA e mercurio nei muscoli di *Abramis brama* e *Sander lucioperca* è particolarmente preoccupante, poiché la BMAA ha dimostrato di potenziare la neurotossicità del mercurio anche a livelli sub-tossici (Rush *et al.*, 2012).

La combinazione potrebbe dunque costituire un rischio anche quando il mercurio rispetta i limiti regolatori.

I cianobatteri sono procarioti fotosintetici dotati di straordinaria resilienza ambientale. Essi hanno colonizzato quasi tutti gli habitat acquatici e possono tollerare condizioni estreme quali elevata salinità, intensità luminosa variabile e temperature molto alte.

Le specie più frequentemente coinvolte nelle fioriture tossiche includono: *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix rubescens*, *Dolichospermum flos-aquae*, *Aphanizomenon gracile*, *Oscillatoria* spp.

## 2. CASI DI RILEVAZIONE IN ITALIA

In Italia, *P. rubescens* è responsabile di molte fioriture in laghi profondi stratificati di origine vulcanica (Vico, Albano), con presenza documentata anche in mesi autunnali e invernali grazie alla sua capacità di adattarsi a scarse condizioni luminose

### 2.1. Raccolta dei campioni e siti di studio:

Il presente rapporto mostra dati raccolti in quattro laghi italiani caratterizzati da ricorrenti fioriture cianobatteriche e da condizioni ecologiche favorevoli alla proliferazione di specie potenzialmente produttrici di BMAA.

I laghi selezionati – Vico, Albano, Averno e Occhito (Figura 4) – rappresentano diversi contesti ambientali, consentendo una valutazione comparativa della loro eutrofizzazione e della presenza di cianobatteri potenzialmente tossici, nonché la possibilità di rilevare il potenziale bioaccumulo della neurotossina lungo la catena alimentare e di valutarne le possibili ripercussioni in tema di sanità pubblica



Figura 4. Posizione geografica dei laghi studiati

### 2.1.1. Lago di Vico

Il Lago di Vico è un ampio bacino vulcanico situato in una depressione craterica del Complesso Vulcanico dei Cimini, a 60 km a nord di Roma. Ha una superficie di 12,09 km<sup>2</sup>, un volume di  $260,7 \times 10^6$  m<sup>3</sup> e raggiunge una profondità massima di 48,5 m (profondità media: 21,6 m). Il tempo totale di ricambio delle acque è di circa 17 anni (Carollo *et al.*, 1974). L'area del bacino imbrifero è di 41 km<sup>2</sup>.

L'invaso fa parte di un Parco Naturale Regionale ed è designato come zona umida di importanza internazionale secondo la Convenzione di Ramsar. L'area circostante presenta vaste coltivazioni di noccioli e, dal 1300 fino agli anni Sessanta, ospitava numerose cartiere. Il lago è una riserva di acqua potabile per circa 10.000 abitanti dei comuni di Ronciglione e Caprarola ed è molto frequentato per attività ricreative.

Negli ultimi decenni, il lago ha subito un progressivo processo di eutrofizzazione (Barbanti *et al.*, 1971; Gelosi *et al.*, 1985). Qui si verificano annualmente fioriture di *P. rubescens*, da inverno a tarda primavera (Dyer, 1995).

Durante l'estate le popolazioni si trovano a circa 25 m di profondità, risalendo in autunno fino a raggiungere la superficie in inverno. I pesci fitoplanctivori si nutrono di tali fioriture accumulando le tossine nei propri tessuti.

Il nostro gruppo, negli anni, ha studiato la dinamica della popolazione di *P. rubescens* e la produzione di tossine in questo lago (Mazza *et al.*, 2008; Bruno *et al.*, 2012; Bruno *et al.*, 2009; Laneve *et al.*, 2024).

### 2.1.2. Lago Albano

Il Lago Albano, anch'esso un lago vulcanico all'interno di una depressione craterica, ha forma ellissoidale ed è oggetto di studi da molti anni. Ha un perimetro di 12 km e una profondità massima di 175 m. Il tempo medio di rinnovamento dell'acqua supera i 67 anni.

Non avendo emissari naturali, presenta un antico canale romano scolpito nella roccia lavica del cratere, utilizzato storicamente per regolare il livello dell'acqua.

Dagli anni Sessanta, prelievi idrici incontrollati per uso umano ne hanno abbassato il livello di oltre quattro metri al di sotto dell'emissario artificiale, andando ad inficiare sullo stato trofico dell'invaso e trasformandolo da oligotrofico a eutrofico.

La dinamica della popolazione di *P. rubescens* nel Lago Albano mostra stratificazione superficiale con fioriture invernali e stratificazione metalimnica in estate, con massimi a 25-30 m di profondità. Complessivamente, si osserva un calo dell'80-86% della popolazione tra fine aprile e inizio novembre (Messineo *et al.*, 2006; Messineo *et al.*, 2009), coerente con quanto osservato nel lago di Zurigo (Walsby *et al.*, 1998) e nel Lac du Bourget (Jacquet *et al.*, 2005).

In primavera, a causa di meteo instabile, la stratificazione degli strati superiori può essere perturbata, causando occasionali risalite della popolazione di *P. rubescens* fino a produrre schiume superficiali persino in aprile-maggio.

### 2.1.3. Lago d'Averno

Il Lago d'Averno è un lago vulcanico (vulcano quiescente) situato nel comune di Pozzuoli, tra la frazione di Lucrino e il sito archeologico di Cuma, nell'area dei Campi Flegrei. È il secondo lago per dimensioni del complesso flegreo. Presenta forma ellittica, superficie di 0,55 km<sup>2</sup> e profondità massima di 34 m.

Lo circondano pareti crateriche scoscese e vegetazione rigogliosa. Fin dall'antichità è noto per le sue associazioni mitologiche con l'oltretomba, legate a esalazioni solforose derivanti dall'attività geotermale.

Negli ultimi decenni, le attività antropiche hanno contribuito al suo degrado ecologico: scarichi illegali di reflui agricoli e urbani immettono elevate quantità di azoto e fosforo, favorendo diffuse fioriture algali, spesso riconducibili al cianobatterio tossico *P. rubescens* (Lega *et al.*, 2023; Ferranti *et al.*, 2008). Le fioriture si verificano soprattutto nei mesi invernali, in particolare tra fine gennaio e inizio febbraio o durante notti molto fredde.

Il lago comunica con il mare tramite un canale che attraversa l'area di Lucrino, sede di numerosi allevamenti di mitili destinati ai mercati del Centro Italia.

#### **2.1.4. Lago di Occhito**

Il Lago di Occhito, situato tra Molise e Puglia, è il più grande invaso artificiale italiano. Creato mediante sbarramento del fiume Fortore per uso potabile, ha profondità media di circa 90 m, superficie di 13 km<sup>2</sup> e si estende per 12 km in lunghezza.

Il Fortore, a valle della diga, scorre per 67 km fino al Mar Adriatico, raggiungendo aree costiere con importanti allevamenti di cozze, come le lagune di Lesina e Varano.

Nell'inverno 2009, si è sviluppata una vasta fioritura di *P. rubescens*, con formazione di spesse schiume rosso-violacee persistenti da gennaio ad aprile. Fioriture simili erano state osservate sporadicamente negli anni precedenti, ma l'evento del 2009 è stato eccezionalmente esteso.

A marzo-aprile 2009, intense piogge resero necessario l'apertura degli scarichi della diga, causando il rilascio nel Fortore di grandi quantità di acqua lacustre contaminata da biomassa cianobatterica. Riprese aeree documentarono il trasporto verso mare di queste "maree rosse" fluviali, con potenziale impatto sugli ecosistemi costieri e sugli impianti di mitilicoltura (De Pace *et al.*, 2014).

## **2.2. Estrazione e quantificazione della BMAA**

L'estrazione e la quantificazione della BMAA dai campioni d'acqua sono state eseguite seguendo Bruno *et al.* (2023).

L'estrazione dai tessuti ittici è stata effettuata secondo Clausi *et al.* (2016).

Le analisi sono state condotte mediante saggio immunoenzimatico ELISA, basato su anticorpi specifici anti-BMAA che competono con un coniugato BMAA-HRP.

Nel test ELISA, il segnale colorimetrico sviluppato è inversamente proporzionale alla concentrazione di BMAA del campione. Le variazioni (CV%) risultavano inferiori al 10% per gli standard e inferiori al 15% per i campioni. Il limite di rilevazione (*Limit of Detection*, LOD) era pari a 4 µg/L.

## **2.3. Identificazione e quantificazione dei cianobatteri e della tossina**

I campioni d'acqua destinati ad analisi biologiche e tossicologiche sono stati raccolti mensilmente con bottiglia Ruttner da 2,5 L da quattro stazioni superficiali costiere e una centrale. I campioni venivano trasferiti rapidamente in laboratorio, mantenuti refrigerati.

Le osservazioni microscopiche sono state eseguite entro 48 ore con microscopio invertito secondo Utermöhl (1931) e Lund *et al.* (1958), utilizzando camere di sedimentazione da 25 mL.

### 2.3.1. Lago di Vico

Il Lago di Vico (Viterbo) è stato monitorato per circa 11 anni (2005-2009, 2012-2013, 2018-2019, 2021-2022), con indagini sulla composizione delle specie cianobatteriche, sulla dinamica di popolazione, sulla contaminazione dell'ittiofauna, sulle acque sotterranee del bacino (pozzi artesiani profondi) e sulle fontane pubbliche di acqua potabile.

Fioriture di *P. rubescens* si sono verificate regolarmente durante i mesi autunno-invernali (Figura 5). Nel periodo di studio (gennaio 2007) sono stati registrati massimi di 72,5 milioni di cellule/L (Mazza *et al.*, 2008), associati a produzione di microcistine con valori massimi di 350 µg/L (marzo 2008) (Bruno *et al.*, 2012; Bruno *et al.*, 2009).



Figura 5. Lago di Vico: fioritura di *P. rubescens* a febbraio 2018

Il più alto livello di BMAA rilevato nei campioni d'acqua è stato 718 µg/L (novembre 2019).

Tra marzo 2006 e marzo 2009, lo studio ha incluso anche la valutazione della contaminazione tossica nei pesci, con particolare attenzione alla specie più apprezzata dal punto di vista commerciale, il coregone (*Coregonus lavaretus*), che ha mostrato concentrazioni di BMAA fino a 26,56 ng/g, destando preoccupazioni riguardo al bioaccumulo nelle specie di rilevanza economica.

Sono stati analizzati anche campioni di nocciole provenienti dalle aree circostanti, in cui sono stati rilevati 2,3 ng/g di BMAA nel 2010, suggerendo un possibile trasferimento della contaminazione oltre l'ecosistema acquatico.

### 2.3.2. Lago Albano

Nel corso degli ultimi due decenni, gli studi sulla dinamica delle popolazioni di cianobatteri tossici nel Lago Albano e sulla produzione associata di biotossine hanno evidenziato la presenza ricorrente di fioriture invernali di *P. rubescens* (Messineo *et al.*, 2006). Le fioriture raggiungono tipicamente il picco in gennaio, con la massima concentrazione registrata pari a  $298 \times 10^6$  cellule/L (gennaio 2008) (Figura 6).

A questi eventi è stata associata la presenza simultanea di microcistine e BMAA.

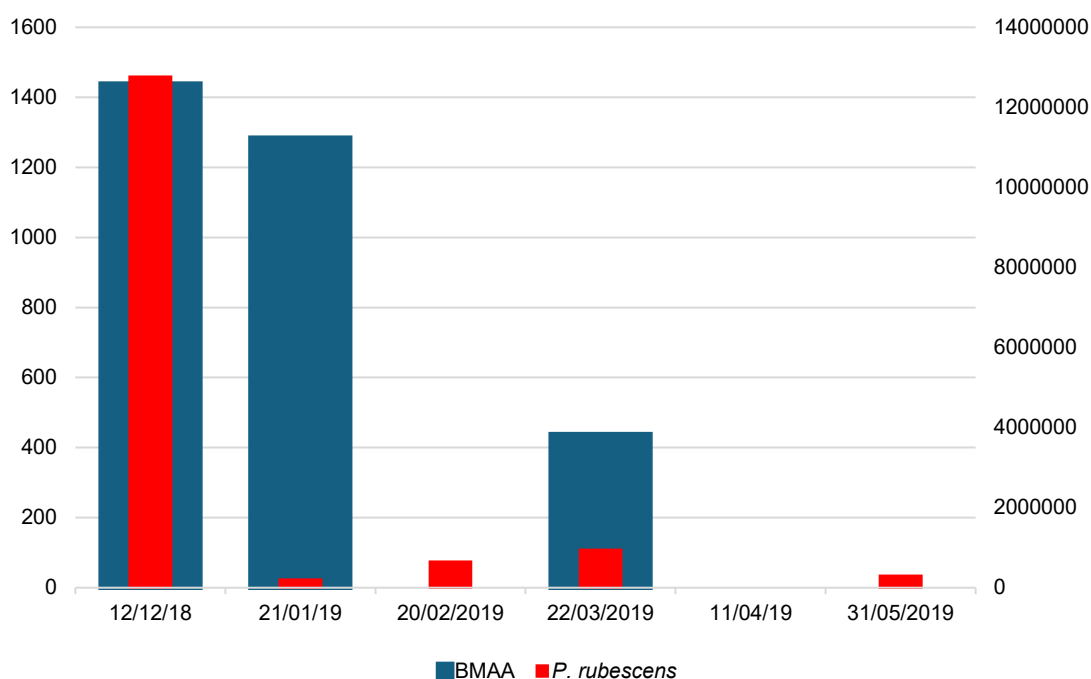
Durante l'ultima campagna di campionamento (inverno 2018 e primavera 2019), l'analisi dei campioni d'acqua ha rilevato livelli di BMAA compresi tra un minimo di 96,1 µg/L (marzo 2019, zona centrale del lago) e un massimo di 2109,96 µg/L (dicembre, zona centrale).



Figura 6. Lago Albano: fioritura di *P. rubescens* a marzo 2019 presso l'impianto del CONI

La variazione stagionale dei livelli di BMAA suggerisce che l'intensità delle fioriture cianobatteriche influenzi significativamente l'accumulo di tossine nell'ittiofauna, e che le tossine possano persistere in acqua anche quando la popolazione di *P. rubescens* è in fase di crescita (inizio inverno) o in regressione (estate) (Figura 7).

Parallelamente, anche le microcistine hanno mostrato livelli elevati durante i picchi di fioritura, evidenziando un rischio combinato per gli organismi acquatici e per l'uomo.



**Figura7. Lago Albano: BMAA (valore medio superficiale) e *P. rubescens* (quantità) in µg/L nel 2018-2019**

### 2.3.3. Lago d’Averno

Nel marzo 2022, il Lago d’Averno e il vicino Lago di Lucrino (Regione Campania) sono stati interessati da una massiccia fioritura di *P. rubescens*.

Nel frattempo, il fenomeno si era esteso anche al tratto di collegamento tra Baia e Lucrino, che collega il lago al mare, assumendo anch’esso una colorazione rossastra. Questa area ospita diversi allevamenti di mitili (*Mytilus galloprovincialis*) destinati ai mercati alimentari del Centro Italia.

Per tale motivo, campioni di mitili provenienti dagli impianti di mitilicoltura sono stati analizzati per la presenza di BMAA.

Nella Figura 8 sono riportate due immagini del satellite europeo Copernicus. Le variazioni cromatiche delle acque, evidenziate mediante composizioni multispettrali (*true color* e *false color*), sono associate alla proliferazione di cianobatteri ricchi in pigmenti fotosintetici (in particolare ficoeritrina), responsabili della caratteristica colorazione rossastra osservata nel lago.

Le analisi di laboratorio durante due campagne di campionamento (dal 4 aprile al 5 maggio) (Tabella 2) hanno rilevato la presenza nell’acqua di BMAA e microcistine (MC). Le MC sono state rilevate in un solo campione, nello stesso in cui era presente anche la BMAA.

L’8 aprile 2022 è stato prelevato un campione di mitili dall’area del golfo di Baia, collegato tramite un canale ai laghi d’Averno e Lucrino, e sono stati selezionati casualmente tre mitili.

I valori ottenuti hanno indicato la presenza di BMAA e MC intracellulari.

Il primo campione conteneva 0,862 ng/g di BMAA e inoltre 0,047 ng/g di MC, il secondo 5,687 ng/g e il terzo 4,373 ng/g di BMAA.

Il 20 aprile sono state raccolte tre aliquote d’acqua dai laghi e in laboratorio sono stati ottenuti tre pellet. Il primo campione mostrava una concentrazione di BMAA pari a 0,965 ng/g; nel secondo e nel terzo campione non sono state rilevate biotossine.

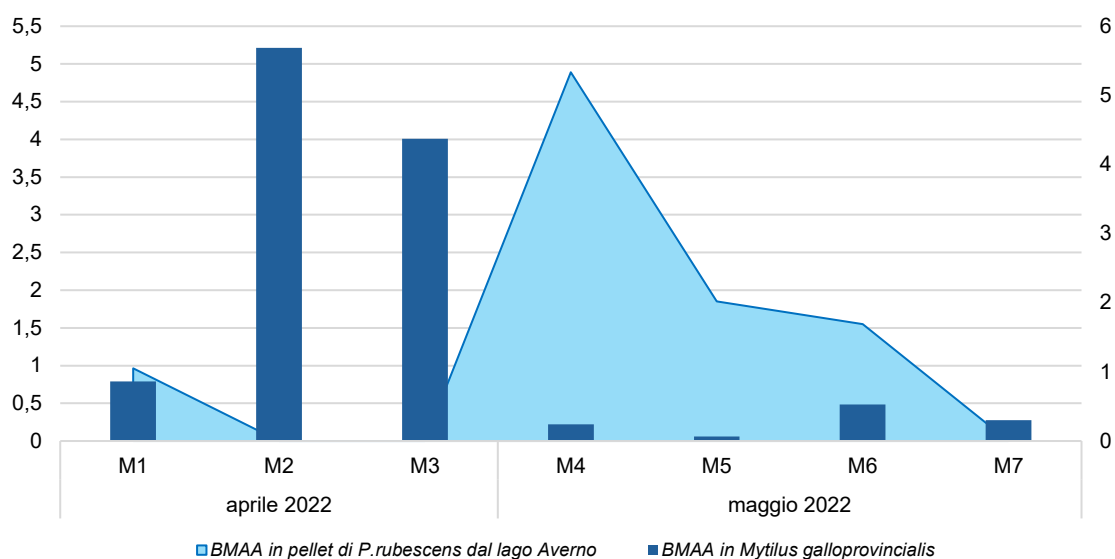


**Figura 8. Immagini satellitari della fioritura di *P. rubescens* nel Lago d'Averno (Italia) nel periodo marzo-aprile 2022.**  
**Fonte: dati modificati da Copernicus Programme Sentinel-2 (2022), elaborati da European Space Agency**

**Tabella 2. Lago Averno: BMAA (ng/g) in campioni d'acqua e mitili dagli allevamenti contaminati nella zona di Baia**

Periodo	Campione	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	<i>P. rubescens</i>
Aprile 2022	M1	0,862	0,965
	M2	5,687	0
	M3	4,373	0
Maggio 2022	M4	0,24	4,89
	M5	0,067	1,853
	M6	0,53	1,55
	M7	0,302	0

Il 3 maggio 2022 sono state raccolte tre aliquote d'acqua, da cui sono stati ottenuti tre pellet processati in laboratorio. Il primo campione mostrava una concentrazione di BMAA di 4,89 ng/g, il secondo di 1,85 ng/g e il terzo di 1,55 ng/g. Il 5 maggio sono stati raccolti campioni di mitili e sono stati selezionati casualmente quattro individui. Il primo campione presentava un valore di BMAA di 0,24 ng/g, il secondo conteneva 0,067 ng/g di BMAA, il terzo 0,53 ng/g e il quarto 0,302 ng/g di BMAA (Figura 9).



**Figura 9. Lago Averno: concentrazione di BMAA (ng/g) nei campioni di acqua e nei mitili provenienti da allevamenti contaminate dalla fioritura nei pressi di Baia (2022)**

### 2.3.4. Lago di Occhito

Le attività di campionamento, condotte tra il 4 novembre 2013 e il 26 novembre 2014, hanno riguardato sia l'acqua sia i pesci, compatibilmente con le condizioni ambientali.

I siti di campionamento includevano il Lago di Occhito e la confluenza del fiume Fortore.

La frequenza di campionamento era mensile, tranne da novembre ad aprile 2014, periodo in cui veniva effettuato bimestralmente. Sono stati analizzati in totale 42 campioni d'acqua e 226 esemplari di pesci, tra cui black bass (*Micropterus salmoides*), carpa (*Cyprinus carpio*), carassio (*Carassius carassius*), cavedano (*Squalius cephalus*) e alborella mediterranea (*Alburnus alburnus*).

L'analisi tassonomica ha rivelato la presenza di specie algali, tra le quali i cianobatteri rappresentavano il 13,1% della comunità totale, con *Oscillatoria brevis* predominante.

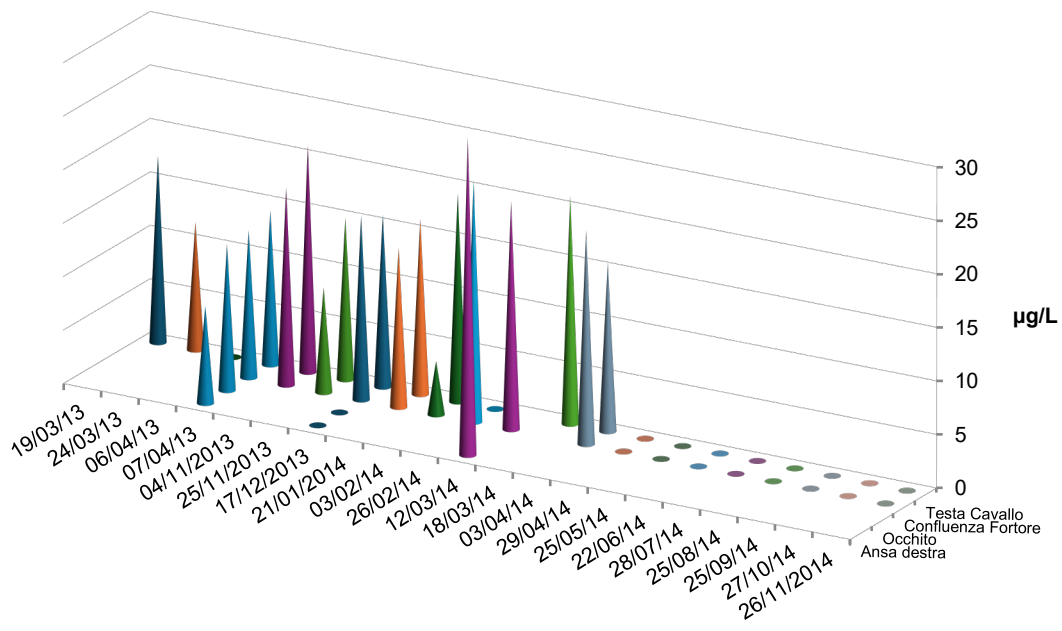
Questa specie ha mostrato una fioritura di  $21 \times 10^6$  cellule/L nel novembre 2013 e una concentrazione di  $571,6 \times 10^3$  cellule/L nel settembre 2014. *P. rubescens* è stata rilevata nell'aprile 2014 a una concentrazione di 34.800 cellule/L.

Per quanto riguarda la presenza di BMAA nei campioni d'acqua, i livelli più elevati sono stati osservati a marzo (24,14 ng/mL), con concentrazioni massime registrate nel sito di campionamento situato sulla curva destra del serbatoio di Occhito.

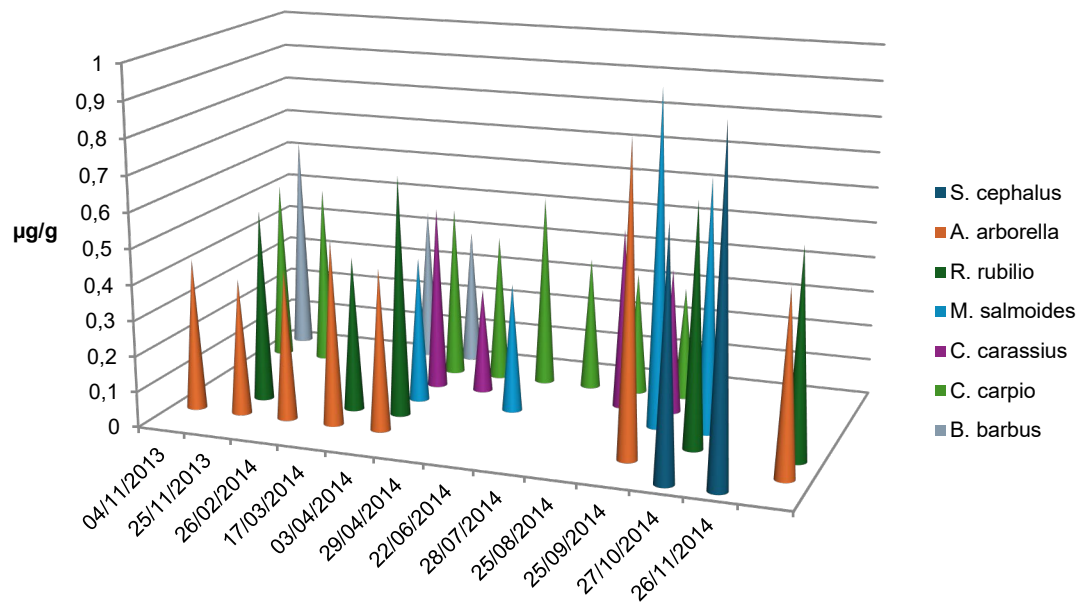
Concentrazioni simili della tossina sono state riscontrate nei campioni primaverili del 2013 e del 2014, con livelli medi leggermente più alti nel secondo anno (12,20 ng/mL nel 2013 vs. 16,37 ng/mL nel 2014), in particolare nel mese di marzo. Nessuna traccia di BMAA è stata rilevata nei campioni prelevati da maggio a novembre (Figura 10).

I campioni di pesce analizzati mediante la tecnica immunoenzimatica ELISA hanno rivelato concentrazioni di BMAA comprese tra 1,44 e 3,93 µg/g di peso secco nel tessuto muscolare.

I livelli più elevati della tossina sono stati riscontrati tra settembre e novembre 2014, con una concentrazione media di 2,01 µg/g di peso secco. Tutte le specie ittiche analizzate hanno mostrato un aumento dei livelli di contaminazione durante i mesi di ottobre-novembre 2014 (Figura 11).



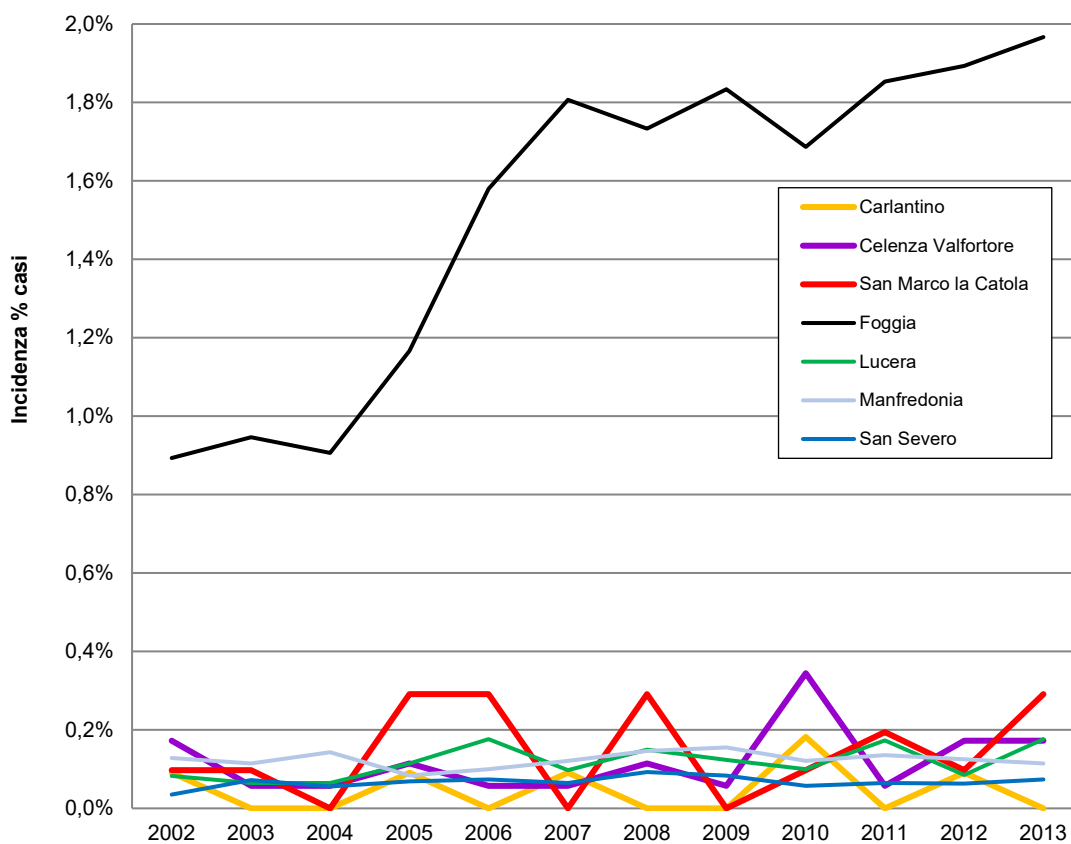
**Figura 10. Lago di Occhito: concentrazioni di BMAA nei diversi siti di campionamento, rilevate tramite ELISA (2013-2014)**



**Figura 11. Lago di Occhito: BMAA (µg/g) nel tessuto muscolare dei pesci (2013-2014)**

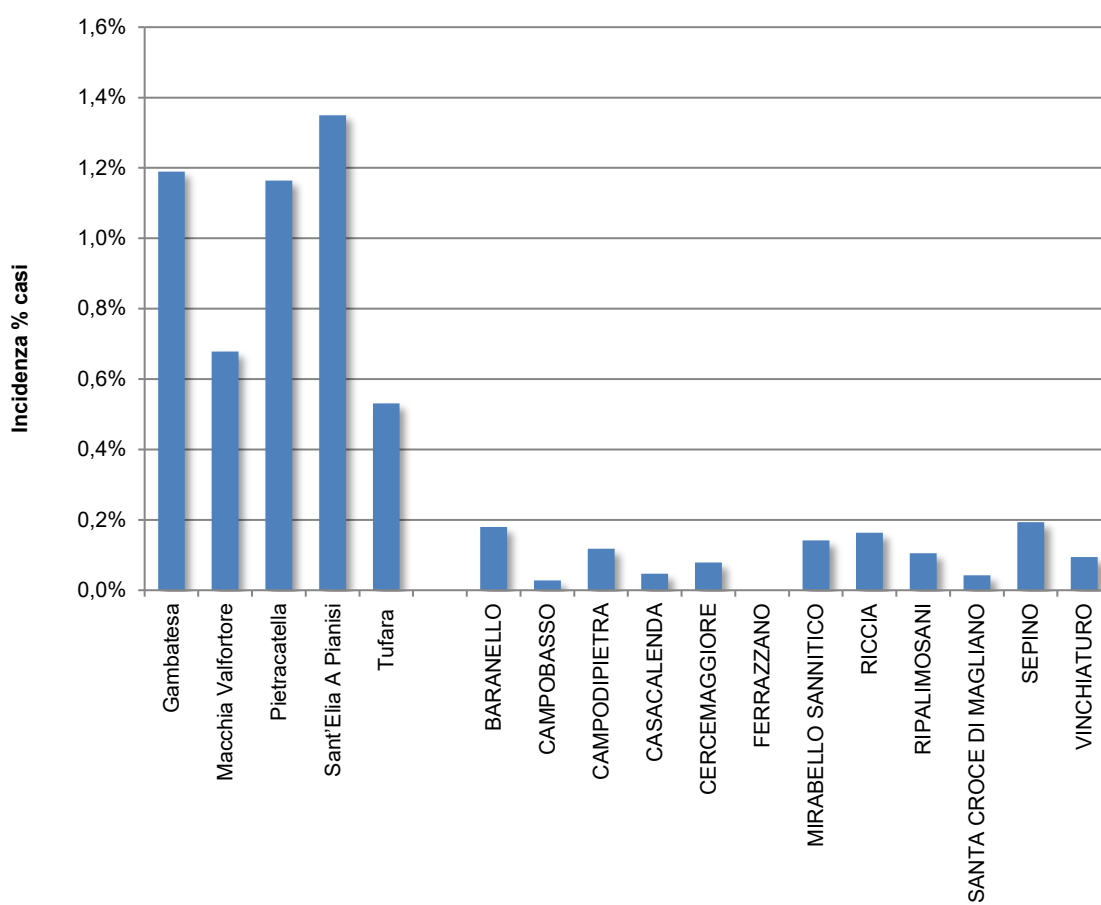
Gli studi internazionali suggeriscono un possibile legame tra presenza di BMAA e patologie neurodegenerative nelle popolazioni residenti vicino a corpi idrici con fioriture tossiche (Fiore *et al.*, 2020), per questo sono stati richiesti dati epidemiologici relativi alle zone nei pressi dell'invaso.

In questo studio i dati epidemiologici fino al 2013 sull'incidenza di malattie come l'Alzheimer e la demenza sono stati forniti dai centri epidemiologici delle regioni Puglia e Molise, coprendo i comuni delle province di Foggia e Campobasso, come mostrato nella Figura 10. Tra i comuni più grandi della provincia di Foggia (Foggia, Lucera, Manfredonia, San Severo), il numero più elevato di casi è stato registrato nel capoluogo di provincia. Tassi di incidenza comparabili sono stati osservati anche nei comuni situati nelle vicinanze del serbatoio di Occhito (Figura 12) (Messineo, *et al.*, 2023). I comuni elencati per primi nella legenda sono quelli più vicini al bacino di Occhito.



**Figura 12. Casi di Alzheimer/demenza (% sulla popolazione) in comuni pugliesi nel periodo 2002-2013. I primi comuni presentati nella legenda sono situati a ridosso del bacino di Occhito**

Dati regionali (Puglia, Molise) fino al 2013 mostrano incidenze elevate di Alzheimer e demenze nei comuni prossimi al bacino di Occhito (Figura 12 e Figura 13) (Messineo, *et al.*, 2023). A Foggia, si osserva un marcato incremento dal 2007.



**Figura 13. Casi di Alzheimer/demenza (% sulla popolazione) in comuni del Molise nell'anno 2010. I primi comuni presentati nel grafico sono situati a ridosso del bacino di Occhito**

È importante sottolineare che tali correlazioni sono osservative e non provano causalità, ma sono coerenti con studi analoghi internazionali (Fiore *et al.*, 2020; Chernoff *et al.*, 2017; Dunlop *et al.*, 2021).

## CONCLUSIONI

L'accumulo di BMAA nella fauna ittica rappresenta uno degli aspetti più rilevanti dal punto di vista sanitario e alimentare. La capacità della BMAA di legarsi alle proteine la rende particolarmente incline a bioaccumularsi nei tessuti animali, in particolare nel fegato e nelle branchie, ma anche nel muscolo, il distretto più consumato dall'uomo.

L'analisi della fauna ittica proveniente dai quattro laghi indagati (Vico, Albano, Averno e Occhito) evidenzia un quadro complesso, caratterizzato da variabilità interspecifica, stagionale e ambientale.

Il Lago di Vico ha mostrato le concentrazioni più elevate di BMAA nei pesci, coerentemente con la forte presenza di *P. rubescens*. Nelle specie analizzate il maggior accumulo di tossina è stato riscontrato nel fegato. Ad Albano la tossina è stata rilevata anche in assenza di bloom visibili, suggerendo che essa possa essere rilasciata durante la senescenza delle cellule cianobatteriche e persistere nell'acqua anche in assenza della fioritura.

Nel lago Averno la tossina è stata riscontrata in quantità significative nei mitili e in specie bentopelagiche come i cefali. I risultati complessivi suggeriscono la presenza di una moderata biomagnificazione nei livelli trofici più alti e maggiore accumulo in specie longeve (carpa, anguilla) e BMF (*BioMagnification Factor*) varia generalmente tra 1,2 e 4,5.

La presenza combinata di BMAA + microcistine + metalli pesanti amplifica il rischio tossico.

I risultati di questo studio evidenziano le crescenti preoccupazioni ecologiche e di sanità pubblica associate alle fioriture di cianobatteri, in particolare negli ecosistemi d'acqua dolce soggetti ad arricchimento di nutrienti e a perturbazioni indotte dal cambiamento climatico.

Il rilevamento di BMAA e microcistine nell'acqua, nei tessuti dei pesci e nei mitili in diversi laghi italiani illustra il rischio di bioaccumulo di tossine e la potenziale esposizione umana attraverso la catena alimentare.

Tali risultati dimostrano che anche mitili marini contaminati possono rappresentare un rischio per i consumatori e causare perdite economiche qualora le acque interne eutrofiche – specialmente quelle collegate a zone costiere – non siano gestite mediante piani di risanamento mirati.

Il Lago di Occhito ha mostrato estese fioriture di *P. rubescens* durante i mesi invernali, con rilevamento simultaneo di BMAA nell'acqua (fino a 24,14 ng/mL) e nel tessuto muscolare dei pesci (fino a 3,93 µg/g peso secco). Andamenti simili sono stati osservati nei laghi Albano e Averno, dove fioriture stagionali sono state accompagnate dalla presenza simultanea di BMAA e microcistine negli organismi acquatici. Questa sovrapposizione temporale solleva preoccupazione riguardo all'esposizione combinata alle tossine, soprattutto nelle popolazioni vulnerabili che dipendono da risorse idriche e alimentari locali.

Di particolare rilievo è il potenziale sinergismo neurotossico tra BMAA e microcistine. Sebbene queste tossine agiscano tramite meccanismi distinti – la BMAA principalmente attraverso l'eccitotossicità e la misincorporazione proteica, le microcistine tramite epatotossicità e inibizione delle fosfatasi proteiche – prove recenti suggeriscono che la co-esposizione possa amplificare gli esiti neurotossici. La presenza di entrambi i composti in pesci e mitili rappresenta quindi un rischio combinato che potrebbe non essere adeguatamente valutato tramite analisi basate su singole tossine.

La contaminazione mista delle acque interne rappresenta una prospettiva di rischio emergente osservata sempre più frequentemente nelle indagini sul campo e nei programmi di monitoraggio ambientale (Akporido *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2012, Banack *et al.*, 2015). Le evidenze indicano che la presenza di contaminanti multipli complica sia la valutazione complessiva del rischio per la salute umana sia l'implementazione tempestiva di misure correttive.

Sebbene i metodi tradizionali di valutazione del rischio assumano generalmente che i componenti di una miscela tossica seguano un modello di additività delle concentrazioni, consentendo così di prevedere la tossicità totale come somma delle tossicità individuali (Feron *et al.*, 1998; Almeda *et al.*, 2018), gli studi hanno dimostrato che possono verificarsi interazioni in grado di modificare la tossicità complessiva, rendendola inferiore o superiore a quanto previsto (Krewski *et al.*, 1989; Heys *et al.*, 2016).

Meccanismi sinergici, non ancora pienamente compresi, possono includere un'affinità aumentata per i siti bersaglio, una maggiore persistenza degli effetti tossici o risposte tossiche variabili.

Poiché le fioriture di cianobatteri si sviluppano comunemente in corpi idrici soggetti a intenso uso antropico (es. scarichi domestici, industriali e agricoli; prelievo per potabilizzazione; attività ricreative; irrigazione agricola; pesca), è prevedibile che cianobatteri tossici coesistano con un ampio spettro di altri agenti biologici e pericoli chimici.

Dati relativi alla tossicità delle cianotossine in combinazione con altre biotossine e composti chimici possono quindi contribuire a valutare se i valori guida e le normative a tutela della salute tengano adeguatamente conto dell'esposizione multipla a cianotossine e ad altri agenti biologici e chimici.

Il riconoscimento della presenza simultanea e della tossicità combinata delle cianotossine, insieme ad altri tossici e patogeni, rappresenta un'area di ricerca in rapida crescita.

È prevedibile che tali co-occorrenze aumentino ulteriormente con la crescita della popolazione umana, la crescente domanda di risorse idriche e il cambiamento climatico.

Inoltre, i dati epidemiologici che rivelano tassi elevati di incidenza di disturbi neurologici, inclusi Alzheimer e demenza, nei comuni adiacenti al Lago di Occhito sottolineano ulteriormente la necessità di indagare gli effetti sulla salute a lungo termine dell'esposizione cronica a miscele di cianotossine.

È importante notare che l'associazione osservata tra elevate concentrazioni di BMAA negli ambienti acquatici e l'aumentata incidenza di malattie neurodegenerative nelle popolazioni vicine è puramente osservazionale; di conseguenza, non stabilisce una relazione causale, ma è coerente con alcuni studi precedenti che hanno rilevato un rischio aumentato di SLA in soggetti residenti in prossimità di laghi con fioriture algali (Caller *et al.*, 2009; Mello *et al.*, 2018).

Possibili fattori confondenti, come struttura per età della popolazione, predisposizione genetica, accesso ai servizi sanitari e co-esposizioni ambientali, devono essere considerati nell'interpretazione di tali correlazioni. Sebbene la causalità non possa essere confermata, queste correlazioni rispecchiano risultati internazionali che collegano l'esposizione ambientale a BMAA a cluster di malattie neurodegenerative.

La BMAA può essere rimossa efficacemente dall'acqua destinata al consumo umano utilizzando metodi di trattamento analoghi a quelli impiegati per le microcistine, come la filtrazione con carbone attivo. Di conseguenza, si raccomanda fortemente che l'acqua proveniente dai laghi studiati sia sottoposta a trattamenti mirati prima della distribuzione tramite sistemi idrici pubblici.

Questa strategia precauzionale sottolinea l'importanza di una gestione rigorosa della qualità dell'acqua e di un monitoraggio continuo per proteggere le risorse idriche potabili e la salute pubblica dai potenziali rischi posti dalla BMAA e da altre tossine associate alle fioriture algali dannose.

Nell'ottica *One Health*, questi risultati supportano strategie di monitoraggio integrate e multisettoriali che affrontino non solo la presenza di singole tossine, ma anche esposizioni combinate e cumulative. Data la persistenza delle cianotossine negli ambienti acquatici, la loro capacità di bioaccumulo e trasferimento trofico e il loro potenziale sinergismo, diventa imprescindibile sviluppare soglie regolatorie e sistemi di allerta precoce.

Sebbene questo studio fornisca evidenza della contaminazione da BMAA in pesci e mitili, esso non include una valutazione quantitativa dell'esposizione alimentare né un confronto con soglie di sicurezza stabilite – principalmente a causa dell'assenza di valori di assunzione tollerabile ufficiali per la BMAA.

Ricerche future dovrebbero stimare i livelli di esposizione umana sulla base dei modelli di consumo locali e delle concentrazioni delle tossine, per supportare valutazioni preliminari del rischio e lo sviluppo di linee guida regolatorie basate sull'evidenza.

In conclusione, questo studio rafforza la necessità urgente di valutazioni del rischio complete che considerino la co-occorrenza di più cianotossine e i loro effetti interattivi.

Le ricerche future dovrebbero concentrarsi sui meccanismi alla base della co-tossicità di BMAA e microcistine, sul perfezionamento dei protocolli di biomonitoraggio e sulla definizione di linee guida protettive per la tutela della salute pubblica e ambientale.

La presenza di BMAA, spesso associata a microcistine nella fauna acquatica, è un fenomeno diffuso in vari corpi idrici dolci italiani, evidenziando la necessità di tecniche analitiche adeguate e multifattoriali per una rilevazione efficace, nonché di misure proattive per impedire che tali cianotossine raggiungano le fonti idriche e si accumulino nei tessuti di pesci e mitili a livelli pericolosi per la vita acquatica e per i consumatori umani.

Inoltre, i risultati provenienti dal Lago di Occhito sottolineano le implicazioni più ampie delle fioriture di cianobatteri per la sicurezza dell'acqua, la sicurezza alimentare e la salute pubblica.

Il rilevamento di tossine nelle fonti idriche e in alimenti come pesci e mitili evidenzia la necessità di un monitoraggio continuo e di una gestione del rischio proattiva.

Inoltre, i potenziali effetti sulla salute a lungo termine suggeriti dai dati epidemiologici sulle malattie neurologiche nelle aree colpite da contaminazione da BMAA e microcistine evidenziano l'urgenza di sforzi di ricerca completi e interventi politici mirati, nonché lo sviluppo e il rafforzamento di normative e linee guida per la gestione della qualità dell'acqua, incluse soglie accettabili di tossine algali in acqua e prodotti alimentari.

Attualmente, non esistono limiti regolatori specifici per la BMAA nell'acqua potabile o negli alimenti all'interno dell'Unione Europea, e questa assenza riflette sia la natura emergente della tossina sia la disponibilità limitata di dati di monitoraggio standardizzati.

I risultati presentati in questo studio evidenziano l'ampia diffusione della BMAA negli ecosistemi d'acqua dolce e il suo bioaccumulo in organismi acquatici consumati dall'uomo. Questi risultati sottolineano la necessità che le agenzie regolatorie considerino l'inclusione della BMAA nei programmi di monitoraggio della qualità dell'acqua e nei quadri di valutazione del rischio, in particolare in un contesto *One Health*.

L'istituzione di valori guida provvisori potrebbe rappresentare un passo importante verso la mitigazione dei potenziali rischi per la salute e l'informazione delle future politiche ambientali e sanitarie.

Prioritizzando la sicurezza dell'acqua e la salute pubblica, le comunità possono affrontare meglio le sfide poste da questi fenomeni ambientali e lavorare verso una gestione sostenibile delle risorse idriche e degli esiti sanitari.

## BIBLIOGRAFIA

- Akporido SO, Onianwa PC. Heavy metals and total petroleum hydrocarbon concentrations in surface water of Esi River, western Niger Delta. *Research J Environmental Sciences*. 2015;9(3):88-100.
- Albano R, Lobner D. Transport of BMAA into neurons and astrocytes by system xc. *Neurotox Res*. 2018;33;(1):1-5.
- Almeda R, Cosgrove S, Buskey EJ. Oil spills and dispersants can cause the initiation of potentially harmful dinoflagellate blooms (“red tides”). *Environmental Science and Technology*. 2018;(52):5718-5724.
- Annadotter H, Forssblad J. Limnologisk undersökning av Finjasjön. Vittsjö (Sweden): Regito AB; Hässleholms kommun, Tekniska kontoret; 2011. p. 1–71.
- Arnold A, Lindqvist D, Aschner M, Karlsson O. Synergistic neurotoxicity of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) in a genetic–environmental model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Sci Rep*. 2023;13(1):8592. doi:10.1038/s41598-023-35793-y.
- Banack SA, Caller T, Henegan P, Haney J, Murby A, Metcalf JS, Powell J, Cox PA, Stommel E. Detection of cyanotoxins,  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine and microcystins, from a lake surrounded by cases of amyotrophic lateral sclerosis. *Toxins*. 2015;7(2):322-336.
- Banack SA, Caller TA, Stommel EW. The cyanobacteria derived toxin beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis. *Toxins*. 2010;(2):2837-50.
- Banack SA, Downing TG, Spáčil Z, Purdie EL, Metcalf JS, Downing S, Esterhuizen M, Codd GA, Cox PA Distinguishing the cyanobacterial neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) from its structural isomer 2,4-diaminobutyric acid (2,4-DAB). *Toxicon*. 2010;(56):868-79.
- Banack SA, Johnson HE, Cheng R, Cox PA. Production of the neurotoxin BMAA by a marine cyanobacterium. *Mar Drugs*. 2007;5(4):180-196. doi:10.3390/md504180
- Banack SA, Metcalf JS, Spáčil Z, Downing TG, Downing S, Long A, Nunn PB, Cox PA Distinguishing the cyanobacterial neurotoxin beta-N-methylamino-L-alanine [BMAA] from other diamino acids. *Toxicon*. 2011;57:730.
- Barbanti L, Bonomi G, Carollo A, Chiudani G, Ferrari I, Gerletti H, Nocentini A, Ruggiu D, Tonolli L. *Limnologia ed ecologia dei laghi di Bolsena, Bracciano, Trasimeno e Vico: situazione attuale e prevedibili conseguenze derivanti da una loro utilizzazione multipla*. Pallanza (Verbania): Istituto Italiano di Idrobiologia; 1971.
- Berntzon L, Erasmie S, Celepli N, Eriksson J, Rasmussen U, Bergman B BMAA Inhibits nitrogen fixation in the cyanobacterium Nostoc sp. PCC 7120. *Mar Drugs*. 2013;(11):3091-108.
- Błaszczuk A, Siedlecka-Kroplewska K, Woźniak M, Mazur-Marzec H. Presence of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine in cyanobacteria and aquatic organisms from waters of Northern Poland: BMAA toxicity studies. *Toxicon*. 2021;194:90-97. doi:10.1016/j.toxicon.2021.02.007.
- Bogialli S, Bruno M, Curini R, Di Corcia A, Laganà A, Mari B. Simple assay for analyzing five microcystins and nodularin in fish muscle tissue: hot water extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(17):6586-92.
- Brenner ED, Martinez-Barboza N, Clark AP, Liang QS, Stevenson DW, Coruzzi GM. Arabidopsis mutants resistant to S(+)- $\beta$ -methyl- $\alpha$ , $\beta$ -diaminopropionic acid, a cycad-derived glutamate receptor agonist. *Plant Physiol*. 2000;124(4):1615-1624.
- Bruno M, Gallo P, Messineo V, Melchiorre S. Health risk associated with microcystin presence in the environment: The case of an Italian lake (Lake Vico, Central Italy). *Int J Environ Prot*. 2012;2:34-41.

- Bruno M, Melchiorre S, Messineo V, Volpi F, Di Corcia A, Aragona I, Guglielmone G, Di Paolo C, Cenni M, Ferranti P. Microcystin detection in contaminated fish from Italian lakes using ELISA immunoassays and LC-MS/MS analysis. In: Gault PM, Marler HJ (Ed.). *Handbook on cyanobacteria: biochemistry, biotechnology and applications*. New York, NY: Nova Science Publishers; 2009. p. 191-210.
- Bruno M, Messineo V, Mattei D, Melchiorre S. Dinamica di specie algali tossiche nei laghi di Albano e di Nemi. Rapporti ISTISAN, Istituto Superiore di Sanità 2004, 04/32, 55
- Bruno M, Messineo V. Extraction and quantification of BMAA from water samples. In: Thajuddin N, Sankara Narayanan A, Dhanasekaran D (Ed.). *Protocols for cyanobacteria sampling and detection of cyanotoxin*. Singapore: Springer; 2023. p. 173-180. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-4514-6\\_25](https://doi.org/10.1007/978-981-99-4514-6_25)
- Bruno M, Mizzoni D. *Nuove sostanze neurotossiche prodotte da alghe: la  $\beta$ -N-metilammino-L-alanina*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2012. (Rapporti ISTISAN 12/9).
- Cabrita A, Medeiros AM, Pereira T, Rodrigues AS, Kranendonk M, Mendes CS. Motor dysfunction in *Drosophila melanogaster* as a biomarker for developmental neurotoxicity. *iScience*. 2022;25(7):104541. doi:10.1016/j.isci.2022.104541
- Caller TA, Doolin JW, Haney JF, Murby AJ, West KG, Farrar HE, Ball A, Harris BT, Stommel EW. A cluster of amyotrophic lateral sclerosis in New Hampshire: a possible role for toxic cyanobacteria blooms. *Amyotroph. Lateral Scler.* 2009;2(10 Suppl. 1):101-108. <https://doi.org/10.3109/17482960903278485>.
- Carollo A, Barbanti L, Gerletti M, Chiaudani G, Ferrari I, Nocentini AM, Bonomi G, Ruggiu D, Tonolli L. Indagini limnologiche sui laghi di Bolsena, Bracciano, Vico e Trasimeno. Roma: Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Ricerca sulle Acque (IRSA); 1974. (Quaderni IRSA; n. 17)
- Chernoff N, Hill DJ, Diggs DL, Faison BD, Francis BM, Lang JR. A critical review of the postulated role of the non-essential amino acid  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine in neurodegenerative disease in humans. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2017;20(4):183-229. doi:10.1080/10937404.2017.1297563
- Clausi MT, Vita V, Bruno M, Franchino C, Trifirò G, Palumbo MP, Floridi F, De Pace R. Validation of ELISA methods for search and quantification of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine in water and fish tissue. *Int J Environm Analytical Chem.* 2016; 96(13):1290-1299. doi: 10.1080/03067319.2016.1249480.
- Combes A, El Abdellaoui S, Sarazin C, Vial J, Mejean A, Ploux O, Pichon V; BMAALS group. Validation of the analytical procedure for the determination of the neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine in complex environmental samples. *Anal Chim Acta.* 2013;771:42-49. doi:10.1016/j.aca.2013.02.016.
- Contardo-Jara V, Otterstein SKB, Downing S, Downing TG, Pflugmacher S. The fate of the cyanobacterial toxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine in freshwater mussels. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2014;101:154-160.
- Contardo-Jara V, Schwanemann T, Pflugmacher S. Uptake of a cyanobacterial neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine by wheat plants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018;163:276-282.
- Courtier A, Potheret D, Giannoni P. Environmental bacteria as triggers to brain disease: Possible mechanisms of toxicity and associated human risk. *Life Sci.* 2022;304:120689. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120689.
- Cox PA, Banack SA, Murch SJ, Rasmussen U, Tien G, Bidigare RR, Metcalf JS, Morrison LF, Codd GA, Bergman B. Diverse taxa of cyanobacteria produce beta-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;(102):5074-5078. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501526102>.
- Cox PA, Banack SA, Murch SJ. Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(23):3380-3383. <https://doi.org/10.1073/pnas.2235808100>.
- Cox PA, Davis DA, Mash DC, Metcalf JS, Banack SA. Dietary exposure to an environmental toxin triggers neurofibrillary tangles and amyloid deposits in the brain. *Proc Biol Sci.* 2016;283(1823):20152397. doi: 10.1098/rspb.2015.2397.

- Cox PA, Kostrzewa RM, Guillemain GJ. BMAA and neurodegenerative illness. *Neurotox Res.* 2018;(33):178-183. <https://doi.org/10.1007/s12640-017-9753-6>.
- Cox PA, Sacks OW. Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALSPDC disease in Guam. *Neurology.* 2002;(58):956-959. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.6.956>.
- Cruz-Aguado R, Winkler D, Shaw CA. Lack of behavioral and neuropathological effects of dietary  $\beta$ -methylamino-L-alanine (BMAA) in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006;84 (2):294-299.
- Davis DA, Cox PA, Banack SA. L-serine reduces spinal cord pathology in a vervet model of preclinical ALS/MND. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2020;79(4):393-406. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlaa002>.
- De Pace R, Vita V, Bucci MS, Gallo P, Bruno M. Microcystin contamination in sea mussel farms from the Italian Southern Adriatic Coast following cyanobacterial blooms in an artificial reservoir. *Journal of Ecosystems.* 2014;(10):1155.
- Degerholm J, Gundersen K, Bergman B, Söderbäck E. Phosphorus-limited growth dynamics in two Baltic Sea cyanobacteria, *Nodularia* sp. and *Aphanizomenon* sp. *FEMS Microbiol Ecol.* 2006 Dec;58(3):323-32. doi: 10.1111/j.1574-6941.2006.00180.x.
- Delcourt N, Claudepierre T, Maignien T, Arnich N, Mattei C. Cellular and molecular aspects of the  $\beta$ -N-Methylamino-l-alanine (BMAA) mode of action within the neurodegenerative pathway: facts and controversy. *Toxins.* 2018;10(6). <https://doi.org/10.3390/toxins10010006>.
- Dossaji SF, Bell EA. Distribution of  $\alpha$ -amino- $\beta$ -methylaminopropionic acid in *Cycas*. *Phytochemistry.* 1973; 12(1):143-144.
- Downing S, Banack SA, Metcalf JS, Cox PA, Downing TG. Nitrogen starvation of cyanobacteria results in the production of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine. *Toxicon.* 2011;58(2):187-194. doi:10.1016/j.toxicon.2011.05.017.
- Downing S, van de Venter M, Downing TG. The effect of exogenous  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine on the growth of *Synechocystis* PCC6803. *Microbial Ecology.* 2012;63(1):149-156. doi:10.1007/s00248-011-9958-9.
- Drobac D, Tokodi N, Simeunović J, Baltić V, Stanić D, Svirčev Z. Human exposure to cyanotoxins and their effects on health. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2013 Jun;64(2):119-30. doi: 10.2478/10004-1254-64-2013-2320.
- Duncan MW, Villacreses NE, Pearson PG, Wyatt L, Rapoport SI, Kopin IJ, Markey SP, Smith QR. 2-Amino-3-(methylamino)-propanoic acid (BMAA) pharmacokinetics and blood-brain barrier permeability in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1991;258:27-35.
- Dunlop RA, Banack SA, Bishop SL, Metcalf JS, Murch SJ, Davis DA. Is exposure to BMAA a risk factor for neurodegenerative diseases? *Neurotox Res.* 2021;39(1):81-106. doi:10.1007/s12640-020-00302-0
- Dunlop RA, Cox PA, Banack SA, Rodgers KJ. The non-protein amino acid BMAA is misincorporated into human proteins in place of L-serine causing protein misfolding and aggregation. *PloS One.* 2013;8(9): e75376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075376>.
- Dyer M. The water quality at Lago di Vico during 1992-1993. *Sci Total Environ.* 1995;171(1-3):77-83.
- Esposito G, Glukhov E, Gerwick WH, Medio G, Teta R, Lega M, Costantino V. Lake Avernus has turned red: bioindicator monitoring unveils the secrets of “Gates of Hades”. *Toxins (Basel).* 2023;15(12):698. doi:10.3390/toxins15120698.
- Esterhuizen-Londt M, Pflugmacher S. Vegetables cultivated with exposure to pure and naturally occurring  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) via irrigation. *Environ Res.* 2019;169:357-361. doi:10.1016/j.envres.2018.11.030.
- Esteves AR, Munoz-Pinto MF, Nunes-Costa D, Candeias E, Silva DF, Magalhães JD, Pereira-Santos AR, Ferreira IL, Alarico S, Tiago I, Empadinhas N, Cardoso SM. Footprints of a microbial toxin from the gut microbiome to mesencephalic mitochondria. *Gut.* 2023;72(1):73-89. doi: 10.1136/gutjnl-2021-326023.

- Faassen EJ, Gillissen F, Zweers HAJ, Lürling M. Determination of the neurotoxins BMAA ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine) and DAB ( $\alpha$ -,  $\gamma$ -diaminobutyric acid) by LC-MS/MS in Dutch urban waters with cyanobacterial blooms. *Amyotroph Later Scler.* 2009;10:79-84.
- Faassen EJ. Presence of the neurotoxin BMAA in aquatic ecosystems: What do we really know? *Toxins.* 2014;6:1109-38.
- Feron VJ, Groten JP, Van Bladeren PJ. Exposure of humans to complex chemical mixtures: hazard identification and risk assessment. In: Seiler JP, Autrup JL, Autrup H (Ed.). *Diversification in Toxicology - Man and Environment. Proceedings of the 1997 EUROTOX Congress Meeting Held in Arhus, Denmark, June 25-28, 1997.* Berlin, Heidelberg: Springer; 1998. p. 363-373. (Archives of toxicology: Supplement 20).
- Ferrante M, Conti GO, Ruggieri S, Sabatino L, Cristaldi A, Copat C, *et al.* Living near waterbodies as a proxy of cyanobacteria exposure and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control study. *Environ Res.* 2020;(186):109530. doi:10.1016/j.envres.2020.109530.
- Ferranti P, Fabbrocino S, Cerulo MG, Bruno M, Serpe L, Gallo P. Characterisation of biotoxins produced by a cyanobacteria bloom in Lake Averno using two LC-MS-based techniques. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2008;25(12):1530-7. doi: 10.1080/02652030802136196.
- Field NC, Metcalf JS, Caller TA, Banack SA, Cox PA, Stommel EW. Linking beta-methylamino-L-alanine exposure to sporadic amyotrophic lateral sclerosis in Annapolis, MD. *Toxicon.* 2013;(70):179-83.
- Fiore M, Parisio R, Filippini T, Mantione V, Platania A, Odone A, Signorelli C, Pietrini V, Mandrioli J, Teggi S, Costanzini S, Cristaldi A, Zuccarello P, Oliveri Conti G, Nicoletti A, Zappia M, Vinceti M, Ferrante M. Living near waterbodies as a proxy of cyanobacteria exposure and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control study. *Environ Res.* 2020;186:109530. doi:10.1016/j.envres.2020.109530.
- Fu Y, Li A, Qiu J, Yan W, Yan C, Zhang L, Li M. Effects of the neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) on the early embryonic development of marine shellfish and fish. *Front Mar Sci.* 2022;9:1033851. doi:10.3389/fmars.2022.1033851.
- Garruto RM, Yase Y. Neurodegenerative disorders of the western Pacific: The search for mechanisms of pathogenesis. *Trends Neurosci.* 1986;(9):368-374.
- Gelosi E, Bazzanti M, Colombari P, Ferrara O, Mastrantuono L, Nicotra G, Seminara M. Physico-chemical and biological characteristics of Lake Vico (Central Italy): preliminary results. In: Proc Int Symp Environ Biogeochem. 1985;42.
- Heys KA, Shore RF, Pereira MG, Jones KC, Martin, F.L. Risk assessment of environmental mixture effects. *RSC Adv.* 2016;6:47844-47857.
- Ince PG, Codd GA. Return of the cycad hypothesis - does the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex (ALS/PDC) of Guam have new implications for global health? *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2005;31(4):345-353. doi:10.1111/j.1365-2990.2005.00686.x.
- Jacquet S, Briand JF, Leboulanger C, Avois-Jacquet C, Oberhaus L, Tassin B, Vincon-Leite B, Paolini G, Druart JC, Anneville O, Humbert JF. The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae.* 2005;(4):651-672.
- Jiang L, Aigret B, Borggraeve W, Spacil Z, Ilag L. Selective LC-MS/MS method for the identification of BMAA from its isomers in biological samples. *Anal Bioana Chem.* 2012;(403):1719-30.
- Jiang LY, Eriksson J, Lage S, Jonasson S, Shams S, Mehine M, Ilag LL, Rasmussen U. Diatoms: A novel source for the neurotoxin BMAA in aquatic environments. *PLoS One.* 2014;9:e84578.
- Jiao Y, Chen Q, Chen X, Wang X, Liao X, Jiang L, Wu J, Yang L. Occurrence and transfer of a cyanobacterial neurotoxin  $\beta$ -methylamino-L-alanine within the aquatic food webs of Gonghu Bay (Lake Taihu, China) to evaluate the potential human health risk. *Sci Total Environ.* 2014;468-469, 457-463.

- Jonasson S, Eriksson J, Berntzon L, Spáčil Z, Ilag LL, Ronnevi LO, Rasmussen U, Bergman B. Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(20):9252-7. doi: 10.1073/pnas.0914417107.
- Karamyan VT, Speth RC. Animal models of BMAA neurotoxicity: a critical review. *Life Sci*. 2008;82(5-6):233-246. doi:10.1016/j.lfs.2007.11.020.
- Karlsson O, Berg A-L, Hanrieder J, Lindström A-K, Brittebo EB. Neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) perturbs the development of the nervous system in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Neurotoxicology*. 2012;33(6):1183-9. doi:10.1016/j.neuro.2012.06.007.
- Karlsson O, Berg AL, Lindström AK, Hanrieder J, Brittebo EB. Long-term cognitive impairments and pathological alterations in the hippocampus and striatum after neonatal exposure to the environmental toxin BMAA ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine). *Behav Brain Res*. 2014;(265):191-9. doi:10.1016/j.bbr.2014.02.023.
- Karlsson O, Jiang L, Ersson L, Malmström T, Ilag LL, Brittebo EB. Environmental neurotoxin interaction with proteins: Dose-dependent increase of free and protein-associated BMAA ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine) in neonatal rat brain. *Sci Rep*. 2015;(5):15570. doi:10.1038/srep15570.
- Karlsson O, Lindquist NG, Brittebo EB, Roman E. Selective brain uptake and behavioral effects of the cyanobacterial toxin BMAA ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine) in neonatal rats. *Toxicological Sciences*. 2010;114(2):286-295. doi:10.1093/toxsci/kfq021.
- Karlsson O, Roman E, Berg AL, Brittebo EB. Early hippocampal cell death, and late learning and memory deficits in rats exposed to the environmental toxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine during the neonatal period. *Toxicological Sciences*. 2011;123(2):488-499. doi:10.1093/toxsci/kfr148.
- Krewski D, Thorslund T, Withey J. Carcinogenic risk assessment of complex mixtures. *Toxicol Industrial Health*. 1989;(5):851-867.
- Krüger T, Mönch B, Oppenhäuser S, Luckas B. LC-MS/MS determination of the isomeric neurotoxins BMAA ( $\beta$ -N-methylamino-L-alanine) and DAB (2,4-diaminobutyric acid) in cyanobacteria and seeds of *Cycas revoluta* and *Lathyrus latifolius*. *Toxicon*. 2010;55(2-3):547-557. doi:10.1016/j.toxicon.2009.10.009.
- Kruger T, Oelmüller R, Luckas B. The origin of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA): Cycads and/or cyanobacteria? *J Endocytobiosis Cell Res*. 2012;(22):29-36.
- Kubo T, Kato N, Hosoya K, Kaya K. Effective determination method for a cyanobacterial neurotoxin,  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine. *Toxicon*. 2008;51(7):1264-1268. doi:10.1016/j.toxicon.2008.02.015.
- Lage S, Annadotter H, Rasmussen U, Rydberg S. Biotransfer of  $\beta$ -N-Methylamino-L-alanine (BMAA) in a eutrophic freshwater lake. *Mar Drugs*. 2015;13(3):1185-1201. <https://doi.org/10.3390/md13031185>.
- Lage S, Costa PR, Moita T, Eriksson J, Rasmussen U, Rydberg SJ. BMAA in shellfish from two Portuguese transitional water bodies suggests the marine dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as a potential BMAA source. *Aquat Toxicol*. 2014;152:131-138.
- Lance E, Arnich N, Maignien T, Biré R. Occurrence of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) and isomers in aquatic environments and aquatic food sources for humans. *Toxins (Basel)*. 2018;10(2):83. doi: 10.3390/toxins10020083.
- Laneve G, Téllez A, Kallikkattil Kuruvila A, Bruno M, Messineo V. Eutrophication and HAB occurrence control in lakes of different origins: a multi-source remote sensing detection strategy. *Remote Sens*. 2024;(16):1792. <https://doi.org/10.3390/rs16101792>.
- Lega M, Medio G, Endreny T, Casazza M, Esposito G, Costantino V, Teta R. Cyanobacterial biomonitoring in Lake Avernus during the COVID-19 pandemic: Integrating remote sensing and field data for pollution source detection. *International Journal of Computational Methods and Experimental Measurements*. 2023;11(3):135-141. <https://doi.org/10.18280/ijcmem.110301>.

- Lepoutre A, Id N, Milliote M, Bonnard M, Geffard A, Lance E. Genotoxic and cytotoxic effects on the immune cells of the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha* exposed to the environmental neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA). *Toxins*. 2018;10(3):106. doi:10.3390/toxins10030106.
- Li A, Liu J, Qiu J, Wang G, Zheng X, Ji Y, Yan G, Zhao P, Wu X, Yan W, Zhang L, Li M, Fu Y. Cell cycle of microalga *Isochrysis galbana* arrested by neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine and corresponding molecular mechanisms. *Sci Total Environ*. 2023;874:162445. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.162445.
- Li A, Tian Z, Li J, Yu R, Banack SA, Wang Z. Detection of the neurotoxin BMAA within cyanobacteria isolated from freshwater in China. *Toxicon*. 2010;55(9):947-953. doi:10.1016/j.toxicon.2010.01.011.
- Li M, Qiu J, Yan G, Zheng X, Li A. How does the neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine exist in biological matrices and cause toxicity? *Sci Total Environ*. 2024;(922): 171255, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171255>.
- Liu X, Rush T, Lobner D.  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine induces endoplasmic reticulum stress-mediated neuronal apoptosis. *Neurobiol Dis*. 2010;40(1):258-264.
- Lobner D, Piana PMP, Salous A, Peoples RW.  $\beta$ -N-methylamino-l-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms. *Neurobiol Dis*. 2007;25,(2):360-366, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.10.002>.
- Lopicic S, Svirčev Z, Palanački Malešević T, Kopitović A, Ivanovska A, Meriluoto J. Environmental Neurotoxin  $\beta$ -N-Methylamino-L-alanine (BMAA) as a widely occurring putative pathogenic factor in neurodegenerative diseases. *Microorganisms*. 2022;10(12):2418. doi: 10.3390/microorganisms10122418.
- Lund JWG, Kipling C, Le Cren E. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiology*. 1958;(11):143-170.
- Main BJ, Dunlop RA, Rodgers KJ. The use of L-serine to prevent betamethylamino-L-alanine (BMAA)-induced proteotoxic stress in vitro. *Toxicon*. 2018;(109):7-12.
- Main BJ, McLean J, Scott GN, Rodgers KJ. Human primary astrocytes undergo toxic metabolic stress with  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine exposure. *Toxicon*. 2015;109:90-95.
- Manolidi K, Triantis TM, Kaloudis T, Hiskia A. Neurotoxin BMAA and its isomeric amino acids in cyanobacteria and cyanobacteria-based food supplements. *J Hazard Mater*. 2018;(365):345-365.
- Martin RM, Bereman MS, Marsden KC. BMAA and MCLR interact to modulate behavior and exacerbate molecular changes related to neurodegeneration in larval zebrafish. *Toxicol Sci*. 2021;(179):251-261.
- Masseret E, Banack S, Boumédiène F, Abadie E, Brient L, Pernet F, Juntas-Morales R, Pageot N, Metcalf J, Cox P. The French Network on A.L.S.: Investigation, dietary BMAA exposure in an amyotrophic lateral sclerosis cluster from Southern France. *PLoS One*.(2013);8:e83406.
- Mazza R, Capelli G, Teoli P, Bruno M, Messineo V, Melchiorre S, Di Corcia A. Toxin contamination of surface and subsurface water bodies connected with Lake Vico's watershed (Central Italy). In: Romero JD, Molina PS (Ed.). *Drinking water: contamination, toxicity and treatment*. New York, NY: Nova Publishers Inc., 2008. p. 1-100.
- Mello FD, Braidly N, Marçal H, Guillemin G, Nabavi SM, Neilan BA. Mechanisms and effects posed by neurotoxic products of cyanobacteria/microbial eukaryotes/dinoflagellates in algae blooms: a review. *Neurotox Res*. 2018;33:153-167. <https://doi.org/10.1007/s12640-017-9780-3>.
- Messineo V, Bogialli S, Melchiorre S, Sechi N, Lugliè A, Casiddu P, Mariani MA, Bachisio M, Di Corcia A, Mazza R, Carloni E, Bruno M. Cyanobacterial toxins in Italian freshwaters. *Limnologia*. 2009;39(2): 95-106, <https://doi.org/10.1016/j.limno.2008.09.001>.
- Messineo V, Bruno M, De Pace R, Vita V, Franchino C. Cianotossine e loro ruolo in un approccio One Health. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2023. (Rapporti ISTISAN 23/20).
- Messineo V, Mattei D, Melchiorre S, Salvatore G.; Bogialli S, Salzano R, Mazza R, Capelli G, Bruno M. Microcystin diversity in a *Planktothrix rubescens* population from Lake Albano (Central Italy). *Toxicon*. 2006;48:160-74.

- Metcalfe JS, Lobner D, Banack SA, Cox GA, Wyatt PB, Nunn PB, *et al.* Analysis of BMAA enantiomers in cycads, cyanobacteria, and mammals: in vivo formation and toxicity of D-BMAA. *Amino Acids*. 2017;49(8):1427-1439. doi:10.1007/s00726-017-2445-y.
- Mondo K, Broc Glover W, Murch SJ, Liu G, Cai Y, Davis DA, Mash DC. Environmental neurotoxins  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) and mercury in shark cartilage dietary supplements. *Food Chem Toxicol*. 2014;70:26-32. doi: 10.1016/j.fct.2014.04.015.
- Monteiro M, Costa M, Moreira C, *et al.* Screening of BMAA-producing cyanobacteria in cultured isolates and in situ blooms. *J Appl Phycol*. 2017;29:879-888. doi:10.1007/s10811-016-1003-4.
- Murch S, Cox PA, Banack SA. A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004a;101:12228-12231.
- Murch SJ, Cox PA, Banack SA, Steele JC, Sacks OW. Dietary exposure to an environmental toxin triggers neurofibrillary tangles and amyloid deposits in the brain. *Proc Biol Sci*. 2004b;271(Suppl 4):S331-S333.
- Okamoto S, Esumi S, Hamaguchi-Hamada K, Hamada S.  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) suppresses cell cycle progression of non-neuronal cells. *Sci Rep*. 2018;8:17995. doi:10.1038/s41598-018-36418-9.
- Okle O, Rath L, Galizia CG, Dietrich DR. The cyanobacterial neurotoxin beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA) induces neuronal and behavioral changes in honeybees. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013;270(1):9-15.
- Pablo J, Banack SA, Cox PA, Johnson TE, Papapetropoulos S, Bradley WG, BuckA, Mash DC. Cyanobacterial neurotoxin BMAA in ALS and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand*. 2009;120(4):216-225. doi:10.1111/j.1600-0404.2008.01150.x
- Pernet F, Malet N, Pastoureaud A, Vaquer A, Quéré C, Dubroca L. Marine diatoms sustain growth of bivalves in a Mediterranean lagoon. *J Sea Res*. 2012;68:20-32 <https://doi.org/10.1016/j.seares.2011.11.004>.
- Perry TL, Bergeron C, Biro AJ, Hansen S.  $\beta$ -N-Methylamino-L-alanine chronic oral administration is not neurotoxic to mice. *J Neurol Sci*. 1989;94:173-180.
- Pierozaan P, Andersson M, Brandt I, Karlsson O. The environmental neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) inhibits melatonin synthesis in primary pinealocytes and a rat model. *J Pineal Res*. 2018;65(Suppl. 1):e12488.
- Pierozaan P, Karlsson O. Mitotically heritable effects of BMAA on striatal neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell Death Dis*. 2019;10:478. doi:10.1038/s41419-019-1710-2.
- Pierozaan P, Piras E, Brittebo E, Karlsson O. The cyanobacterial neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) targets the olfactory bulb region. *Arch Toxicol*. 2020;94(8):2799-2808. doi: 10.1007/s00204-020-02775-6.
- Powers S, Kwok S, Lovejoy E, Lavin T, Sher RB. Embryonic exposure to the environmental neurotoxin BMAA negatively impacts early neuronal development and progression of neurodegeneration in the Sod1-G93R zebrafish model of amyotrophic lateral sclerosis. *Toxicol Sci*. 2017;157(1):129-140. doi:10.1093/toxsci/kfx020.
- Purdie EL, Metcalf JS, Kashmiri S, Codd GA. Toxicity of the cyanobacterial neurotoxin beta-N-methylamino-L-alanine to three aquatic animal species. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009;10(Suppl 2):67-70. doi:10.3109/17482960903273551.
- Rakonczay Z, Matsuoka Y, Giacobini E. Effects of L-beta-N-methylamino-L-alanine (L-BMAA) on the cortical cholinergic and glutamatergic systems of the rat. *J Neurosci Res*. 1991;29(1):121-6. doi: 10.1002/jnr.490290114.
- Rao SD, Banack SA, Cox PA, Weiss JH. BMAA selectively injures motor neurons via AMPA/kainate receptor activation. *Exp Neurol*. 2006;201(1):244-252.
- Réveillon D, Abadie E, Séchet V, Briant L, Savar V, Bardouil M, Hess P, Amzil Z. Beta-N-Methylamino-L-Alanine: LC-MS/MS optimization, screening of cyanobacterial strains and occurrence in shellfish

- from Thau, a French Mediterranean lagoon. *Mar Drugs*. 2014;12(11):5441-5467. doi:10.3390/md12115441.
- Rosen J, Hellenas KE Determination of the neurotoxin BMAA (beta-N-methylamino-L-alanine) in cycad seed and cyanobacteria by LC-MS/MS (liquid chromatography tandem mass spectrometry). *Analyst*. 2008;133:1785-89.
- Ross SM, Seelig M, Spencer PS. Specific antagonism of excitotoxic action of 'uncommon' amino acids assayed in organotypic mouse cortical cultures. *Brain Res*. 1987;425(1):120-127. doi: 10.1016/0006-8993(87)90490-2.
- Rush T, Liu X, Lobner D. Synergistic toxicity of the environmental neurotoxins methylmercury and beta-N-methylamino-l-alanine. *Neuroreport*. 2012;23:216-219.
- Sakai N, Ohfuné Y. Total synthesis of galantamine. Revision of the original structure. *Tetrahedron Lett*. 1990;31(22):3183-3186. doi:10.1016/S0040-4039(00)94727-0.
- Samardžić J, Barac A, Miladinović-Tasić N, Nikolić M, Jovanović T, Živković M.  $\beta$ -N-Methylamino-L-alanine (BMAA): neurotoxin, natural occurrence, and potential health effects. *Toxicol*. 2020;184:19-31. doi:10.1016/j.toxicol.2020.05.005.
- Scott LL, Downing TG. A single neonatal exposure to BMAA in a rat model produces neuropathology consistent with neurodegenerative diseases. *Toxins*. 2017;10(1):22. doi:10.3390/toxins10010022.
- Shoji J, Nakai M, Abe H, Saiki T. Studies on Amaryllidaceae alkaloids. Structures of (+)-galanthamine and (+)-lycoramine. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1975;23(6):1285-1293. doi:10.1248/cpb.23.1285.
- Sierosławska A, Rymuszka A. Assessment of the cytotoxic impact of cyanotoxin beta-N-methylamino-L-alanine on a fish immune cell line. *Aquat Toxicol*. 2019;212:214-221. doi:10.1016/j.aquatox.2019.05.012.
- Spáčil Z, Eriksson J, Jonasson S, Rasmussen U, Ilag LL, *et al*. Analytical protocol for identification of BMAA and DAB in biological samples. *Analyst*. 2010;135:127-132.
- Spencer PS, Hugon J, Ludolph A, Nunn PB, Ross SM, Roy DN, Schaumburg HH. Discovery and partial characterization of primate motor-system toxins. *Ciba Found Symp*. 1987;126:221-38. doi:10.1002/9780470513422.ch14.
- Spencer PS, Nunn PB, Hugon J, Ludolph AC, Ross SM, Roy DN, *et al*. Guam amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism-dementia linked to a plant excitant neurotoxin. *Science*. 1987;237(4814):517-522. doi:10.1126/science.3603037.
- Sun J, Zhou Y, Zhu L, Huang X, Li Y, Liu J. Elimination of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) during UV/chlorine process: Influence factors, transformation pathway and disinfection by-product formation. *Water Res*. 2021;196:117012. doi:10.1016/j.watres.2021.117012
- Utermöhl H. Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons (mit besonderer Berücksichtigung des Ultraplanktons). *Verh Int Ver Theor Angew Limnol*. 1931;5:567-596.
- Vega A, Bell EA.  $\alpha$ -amino- $\beta$ -methylaminopropionic acid, a new amino acid from seeds of *Cycas circinalis*. *Phytochemistry*. 1967;6:759-62.
- Violi JP, Mitrović SM, Colville A, Main BJ, Rodgers KJ. Prevalence of  $\beta$ -methylamino-L-alanine (BMAA) and its isomers in freshwater cyanobacteria isolated from eastern Australia. *Ecotox Environ Safe*. 2019b;172:72-81. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.046>.
- Walsby AE, Avery A, Schanz F. The critical pressure of gas vesicles in *Planktothrix rubescens* in relation to the depth of winter mixing in Lake Zurich, Switzerland. *J Plank Res*. 1998;20:1357-1375.
- Wang DQ, Yu YX, Zhang XY, Zhang SH, Pang YP, Zhang XL, Yu ZQ, Wu MH, Fu JM. Polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in fish from Taihu Lake: their levels, sources, and biomagnification. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2012;82:63-70.

- Weeks RD, Banack SA, Howell S, Thunga P, Metcalf JS, Green AJ, Cox PA, Planchart A. The effects of long-term, low-dose  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) exposures in adult SODG93R transgenic zebrafish. *Neurotox Res.* 2023;41(5):481-495. doi:10.1007/s12640-023-00658-z.
- Weiss JH, Koh J-Y, Choi DW. Neurotoxicity of  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) and  $\beta$ -N-oxalylamino-L-alanine (BOAA) on cultured cortical neurons. *Brain Res.* 1989;497:64-71.
- Yan B, Han C, Liu Z, Wu G, Wang S, Li J, Xia W, Cui F. Degradation of cyanobacterial neurotoxin  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA) using ozone process: influencing factors and mechanism. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2023;30(16):47873-47881. doi: 10.1007/s11356-023-25754-7.



*Serie Rapporti ISTISAN  
numero di aprile 2026, 2° Suppl.*

*Stampato in proprio  
Servizio Comunicazione Scientifica – Istituto Superiore di Sanità*

*Roma, aprile 2026*