

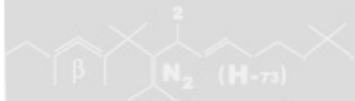
Cristiana Guerranti¹, Emiliano Fanello¹, Guido Perra¹, Francesca Ciardo² Donatella Caserta², Stefano Luisi³, Felice Petraglia³, Silvano Focardi¹

1 Dipartimento di Scienze Ambientali "G.Sarfatti", Università degli Studi di Siena

2 Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Perinatologia e Puericoltura, Università "La Sapienza", Roma

3 Dipartimento di Pediatria, Ostetricia e Medicina Riproduttiva, Università degli Studi di Siena

Biomarker di esposizione umana: risultati preliminari



P R E V I E N I

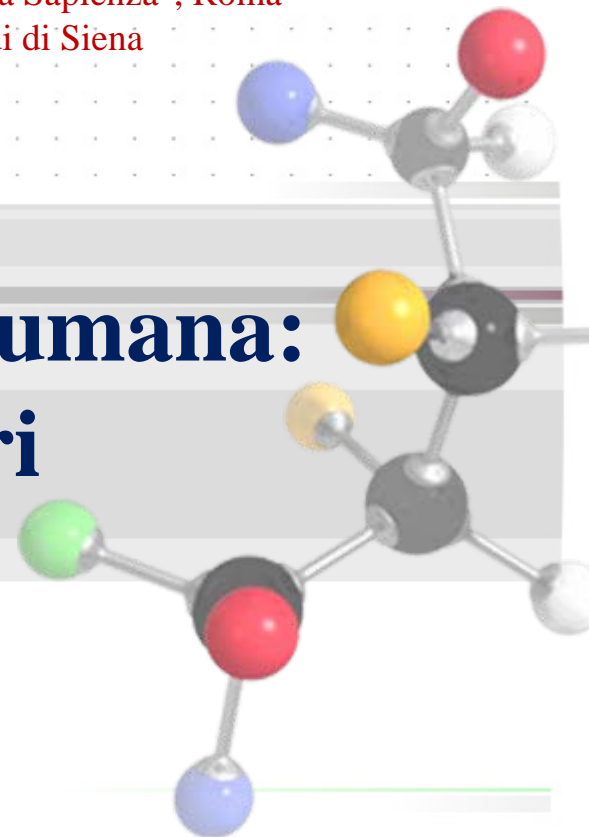


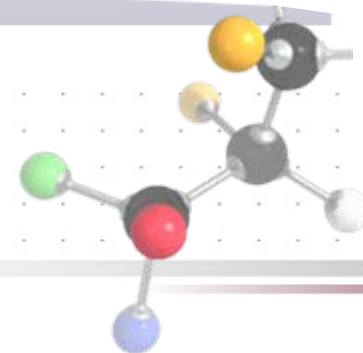
Salute riproduttiva e contaminanti

workshop

**INTERFERENTI ENDOCRINI: DAI BIOMARKER ALLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO:
IL PROGETTO PREVIENI**

27 ottobre 2009 Istituto Superiore di Sanità





La struttura del progetto PREVIENI

Lo studio si articola nei programmi di ricerca sotto indicati:

Studio su popolazioni animali sentinella in due oasi del WWF (UO 3)

Studio sull'infertilità *sine causa* (UO 1, UO 2, UO 3)

Studio *satellite* sull'esposizione transgenerazionale (trasferimento madre-neonato) a interferenti endocrini (IE) (UO 1, UO 2, UO 3)



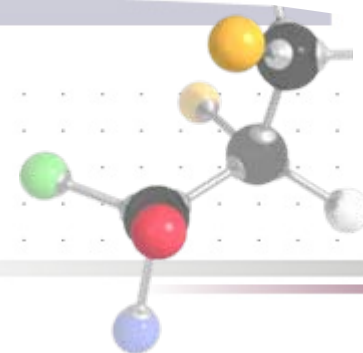
Studio sull'infertilità *sine causa* (UO 1, UO 2, UO 3)

- selezione della popolazione
- indagini anamnestiche, analisi cliniche e radiografiche
- campionamento da coppie fertili e infertili: prelievi di campioni di sangue e liquido spermatico

biomarcatori di esposizione:
identificazione e
quantificazione di
contaminanti chimici con
effetto di interferenti
endocrini

biomarcatori di effetto, in
relazione alla presenza di
interferenti endocrini (IE)

La presenza di una sostanza esogena o di un suo metabolita, o il prodotto dell'interazione tra la sostanza e cellule dell'organo target misurabili (quantificabili) all'interno di un compartimento di un organismo, viene definito *biomarker* di esposizione (Environmental Health Criteria, 155, WHO, 1993).



Attività svolte

Campionamento coppie infertili Roma

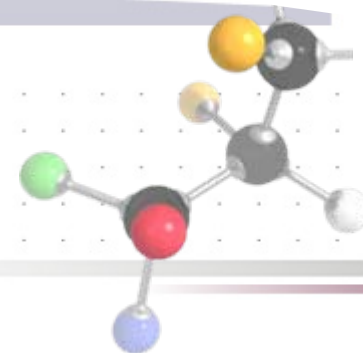


Campionamento 6 coppie di controllo (fertili) Siena

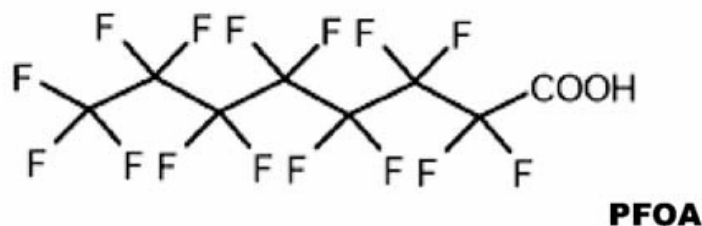
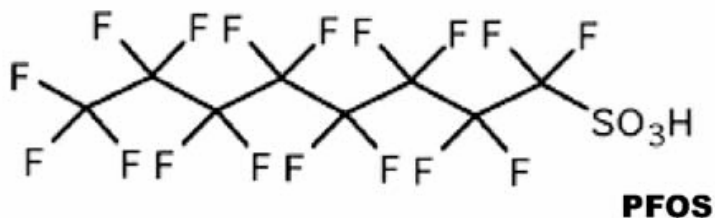


Analisi PFC su sangue di 19 coppie infertili (R07-R27)

Analisi PFC su sangue delle 6 coppie di controllo disponibili

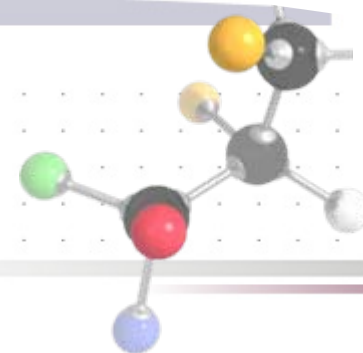


Cosa sono i PFC?



Ampiamente utilizzati a partire dagli anni '50 come emulsionanti in prodotti per la pulizia di tappeti, pelli tessuti, tappezzerie, pavimenti e come componenti nei fitofarmaci. Altri impieghi sono nella produzione di contenitori di uso alimentare, pellicole fotografiche prodotti per la cura personale e schiume antincendio.

In particolare, il PFOA è utilizzato per produrre politetrafluoroetilene (PTFE), o *Teflon*[®], del quale sono note le proprietà antiaderenti e l'inerzia chimica, ed il *Gore-Tex*[®], materiale resistente, impermeabile traspirante e biocompatibile, impiegato nella realizzazione di abbigliamento tecnico-sportivo e di articoli medico sanitari anche in ambito chirurgico.

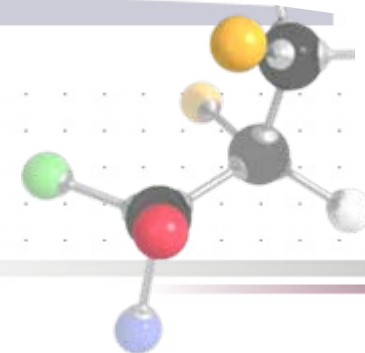


PFC: interferenti endocrini emergenti

Ad oggi gli effetti che i PFC provocano sulla salute umana e sull'ambiente sono poco chiari: per questo motivo negli ultimi anni sono stati realizzati numerosi studi con lo scopo di definire con maggiore chiarezza gli effetti nocivi di queste molecole.

Fra le caratteristiche più importanti che sono emerse si evidenziano:

- persistenza nell'ambiente
- capacità di bioaccumularsi
- neurotossicità
- capacità di interferire con il sistema endocrino
- capacità di interferire con lo sviluppo fetale



Effetti sul sistema endocrino

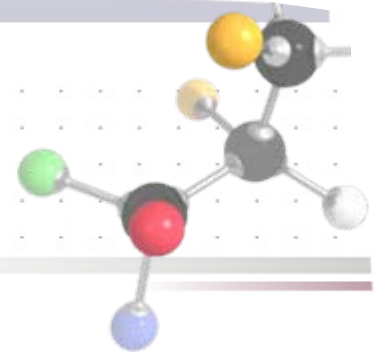
Alcuni studi effettuati sul ratto hanno dimostrato che, in seguito a esposizione a PFOS, si verificano diminuzioni di concentrazione degli ormoni tiroidei T3 e T4.

Un'esposizione continua a PFOS (10 mg/kg/die per 2 settimane) in ratti di sesso femminile influenza il ciclo estrale e determina aumento dei livelli di corticosteroidi nel siero.

A dosi inferiori ($\geq 0,8$ mg/kg/die) l'esposizione *in utero* ha riflessi negativi sulla numerosità della progenie, probabilmente dovuto a riduzione degli impianti embrionali ed incremento dell'incidenza di decessi fetali e/o neonatali.

La somministrazione orale di PFOS ($\geq 0,4$ mg/kg/die) in giovani roditori determina diminuzione del peso corporeo e ritardo nello sviluppo, incluso quello neuromotorio.

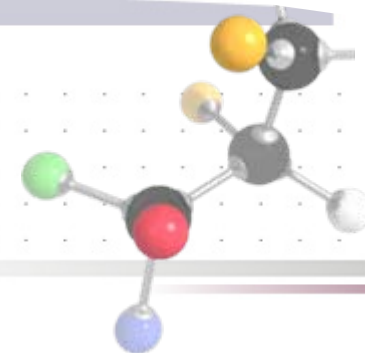
Variazioni dei livelli ormonali in seguito a esposizione cronica di modelli animali a PFOA sono correlate con l'insorgenza di iperplasia e sviluppo di adenoma delle cellule di Leydig.



Effetti sul sistema endocrino

L'esposizione a PFC può essere correlata all'infertilità femminile: uno studio condotto su 1240 donne danesi, riporta che quelle con più elevata concentrazione di PFOS e PFOA nel sangue tendevano ad impiegare più tempo a concepire un figlio rispetto a quelle con basse concentrazioni di tali sostanze.

Fei *et al.*, *Human Reproduction* 2009; 24(5): 1200-1205



Restrizioni alla produzione ed all'impiego

Il PFOS risulta ampiamente diffuso in ambiente, anche a distanze elevate dalle sorgenti emissive originarie: ciò ha portato a una crescente attenzione verso questi composti per cui l'UE si è attivata per limitarne la produzione e l'utilizzo, con lo scopo di ridurre drasticamente le emissioni.

Nel dicembre 2006 è stata pubblicata una Direttiva Europea relativa a restrizioni all'immissione sul mercato di PFOS, non escludendo l'opportunità di tale decisione anche per il PFOA (Direttiva 2006/122/CE). Sono state comunque stabilite deroghe per quanto concerne l'utilizzo di PFOS come componenti di schiume antincendio o in preparati per cromatura e nel settore aeronautico.

Sempre nel 2006 l'US EPA ha richiesto alle aziende produttrici di PFOA di ridurre del 95% le emissioni industriali di tale composto entro il 2010, con la successiva eliminazione dal 2015.

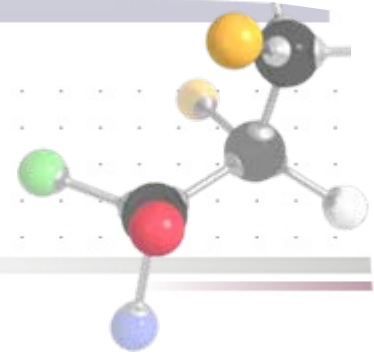


workshop

INTERFERENTI ENDOCRINI: DAI BIOMARKER ALLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO:

IL PROGETTO PREVIENI

27 ottobre 2009 Istituto Superiore di Sanità



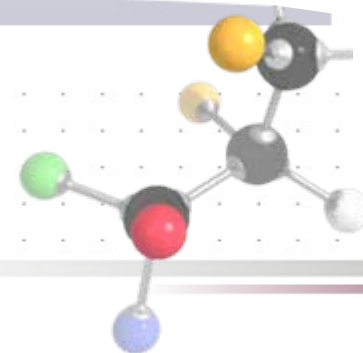
Esposizione umana

Le possibili vie di assorbimento da parte dell'organismo umano risultano:
l'inalazione;
l'ingestione di polveri presenti nell'ambiente;
il consumo di acqua e di alimenti contaminati.

Minoia *et al.*, *G Ital Med Lav Erg* 2008; 30:(4)309-323

C. Guerranti, E. Fanello, G. Perra, F. Ciardo, D. Caserta, S. Luisi, F. Petraglia, S. Focardi

Biomarker di esposizione umana: risultati preliminari



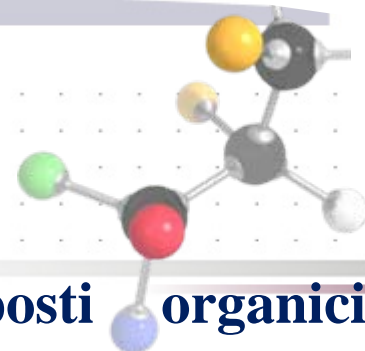
Esposizione umana

La dieta rappresenta la principale via di esposizione nell'organismo umano.

E' stato riportato che durante le fasi di preparazione e di conservazione di alimenti si può verificare un passaggio di PFC dai contenitori ai prodotti destinati al consumo.

Al momento il valore RdF dell'assunzione alimentare di PFOS e PFOA per la popolazione italiana è stato stimato pari a 25 ng/kg/die per PFOS e a 333 ng/kg/die per PFOA .

L'EFSA ha adottato un'opinione su PFOS e PFOA nel febbraio 2008. Per quanto riguarda il PFOS, il gruppo di esperti ha stabilito un *Tolerable Daily Intake* (TDI) di 150 ng/kg/die, mentre per il PFOA, un TDI di 1,5 µg/ kg/die.



Alcuni nostri studi

Valutazione preliminare della presenza di composti organici perfluorurati (PFC) nei sedimenti superficiali delle riserve marine del Parco Nazionale dell'Arcipelago Toscano

Perra, G., Fanello, E., Guerranti, C., Volpi, V., Focardi, S., 2009

Atti XIX Congresso Associazione Italiana di Oceanologia e Limnologia (AIOL), pag. 131

La presenza di PFOS in aree distanti da fonti di contaminazione diretta, evidenzia e conferma che questa molecola sia da considerare ubiquitaria.

Presenza di PFOS nel sangue di esemplari di *Caretta caretta* nel Mar Mediterraneo

Fanello, E., Perra, G., Guerranti, C., Ancora, S., Corsolini, S., Fossi, M.C., Focardi, S., 2008

Atti XI Congresso Società Italiana di Ecologia, pag. 144

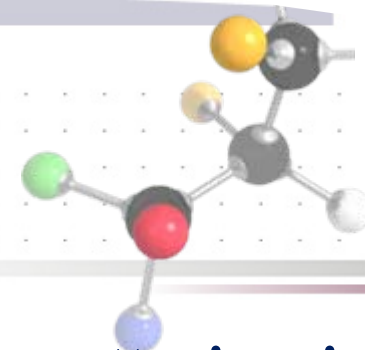
Livelli di composti perfluorurati in campioni di latte umano e di prodotti alimentari

Perra, G., Guerranti Perra, C., Bisogno, I., Corsolini, S., Focardi, S., 2008.

Atti convegno ISS "Interferenti Endocrini: valutazione e prevenzione dei possibili rischi per la salute umana", pag. 26

C. Guerranti, E. Fanello, G. Perra, F. Ciardo, D. Caserta, S. Luisi, F. Petraglia, S. Focardi

Biomarker di esposizione umana: risultati preliminari



Alcuni nostri studi

Presenza di perfluorottano sulfonato ed acido perfluorottanico in specie ittiche provenienti da due golfi della Sicilia.

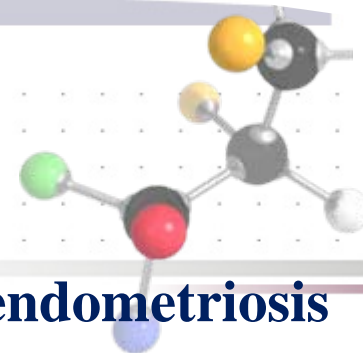
Perra, G., Timpanaro, A., Guerranti, C., Corsolini, S., Sarà, G., D'Anna, G., Focardi, S., 2006

Atti V Convegno Nazionale Consorzio Nazionale Interuniversitario per le Scienze del Mare, pag. 211

PFOS e PFOA in tessuto epatico di specie appartenenti a differenti livelli trofici (*Diplodus annularis*, *Lophius budegassa*, *Merluccius merluccius*, *Mullus barbatus*, *Pagellus acarne*, *Serranus hepatus*, *Spicara flexuosa*), provenienti dai golfi di Augusta e Castellammare.

Il PFOS è stato riscontrato in tutti gli esemplari di *M. barbatus* e *S. flexuosa* prelevati da entrambe le aree, mentre concentrazioni di PFOA sono risultate <LOD in tutte le specie ittiche analizzate.

Gli esemplari provenienti dal Golfo di Augusta presentavano concentrazioni più elevate (*range*: 170 – 257 ng/g p.f.) rispetto al Golfo di Castellammare (*range*: <5 ng/g – 196 ng/g p.f.).



Alcuni nostri studi su matrici umane

Perfluorinated compounds are detectable in women with endometriosis

Luisi S., Caserta D., Guerranti C., Moscarini M., Focardi S., Petraglia F.

Submitted 2009 Fertility and Sterility

Impact of environmental exposure to perfluorinated compounds on sperm DNA quality

Governini L., Guerranti C., Focardi S., Cuppone A.M., Stendardi A., De Leo V., Piomboni P., 2009

System Biology in Reprod Med, 2: 41-55

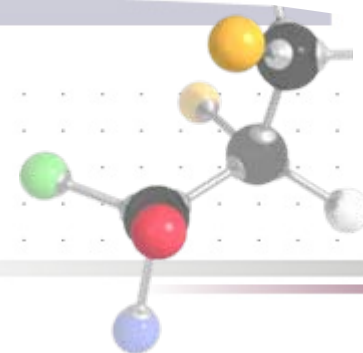
Sangue e liquido seminale di 59 uomini infertili.

PFC rilevati con la più alta incidenza tra gli oligoastenoteratospermici.

42% dei campioni di sangue presentavano contaminazione rilevabile (84% PFOS: $7,07 \pm 0,66$ ng/g, 16% PFOA: $8,03 \pm 1,04$ ng/g).

15% dei campioni di plasma seminale presentavano contaminazione rilevabile (25% PFOS: $5,37 \pm 0,45$ ng/g, 75% PFOA: $7,68 \pm 0,78$ ng/g).

% spermatozoi con il massimo livello di frammentazione del DNA significativamente più elevata in soggetti con livelli rilevabili di PFC (72,44% vs 56,94% $P < 0,05$).

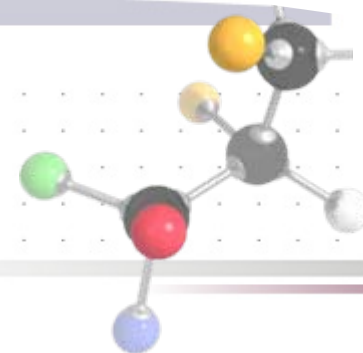


Metodo analisi

La procedura analitica per la determinazione di PFOS e PFOA nei campioni è descritta da Governini *et al.* (2009).

PFOS e PFOA sono stati estratti con un doppio lavaggio liquido-liquido (con MTBE) e determinati con HPLC accoppiata, tramite interfaccia elettrospray, ad uno spettrometro di massa (LOD = 0,5 ng/g p.f.).

Governini *et al.*, 2009. *System Biology in Reprod Med*, 2: 41-55

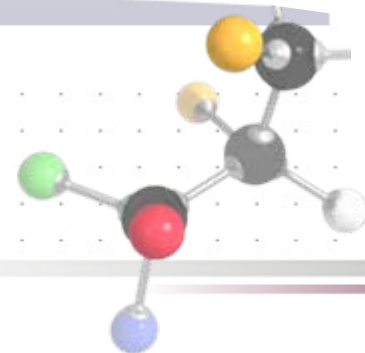


Risultati

PFOA: tutti i campioni $<LOD$

PFOS:

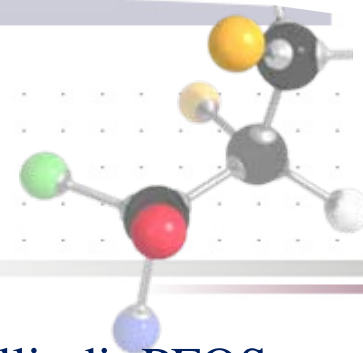
- Coppie di controllo (S01-S06): $<LOD$ in tutti i campioni
- Coppie infertili (R07-R27): 12/37 campioni con concentrazioni rilevabili di PFOS



Risultati: statistica

I livelli di PFOS nei campioni di sangue non risultano correlati all'età dei donatori o a particolari abitudini alimentari.

I test non parametrici effettuati non hanno evidenziato differenze statisticamente significative tra i livelli di PFOS nei campioni del gruppo di controllo e dei donatori infertili, né tra campioni femminili e campioni maschili.



Considerazioni conclusive

La differenza, se pur non statisticamente significativa, nei livelli di PFOS tra donatori infertili e controlli, da un'indicazione importante.

I livelli negli infertili sono dello stesso ordine di grandezza di quelli da noi ottenuti in donne affette da endometriosi e di quelli riportati per la popolazione generale svedese; sono inoltre più elevati di quelli ottenuti nel sangue di uomini infertili e dei gruppi di controllo italiani.

Come evidenziato anche in studi precedenti la contaminazione da PFC risulta "a spot", ovvero solo una esigua frazione di campioni della stessa popolazione ne mostra valori rilevabili. Tale distribuzione porta a concludere che, almeno nel nostro Paese, le fonti di contaminazione puntiformi potrebbero essere più importanti di quelle diffuse, per cui i PFC sarebbero rilevabili solo in una piccola parte degli organismi di una stessa popolazione.

**Cristiana Guerranti¹, Emiliano Fanello¹, Guido Perra¹, Francesca Ciardo² D
onatella Caserta², Stefano Luisi³, Felice Petraglia³, Silvano Focardi¹**

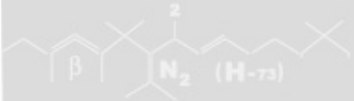
1 Dipartimento di Scienze Ambientali "G.Sarfatti", Università degli Studi di Siena

2 Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Perinatologia e Puericoltura, Università "La Sapienza", Roma

3 Dipartimento di Pediatria, Ostetricia e Medicina Riproduttiva, Università degli Studi di Siena

cristianaguerranti@unisi.it

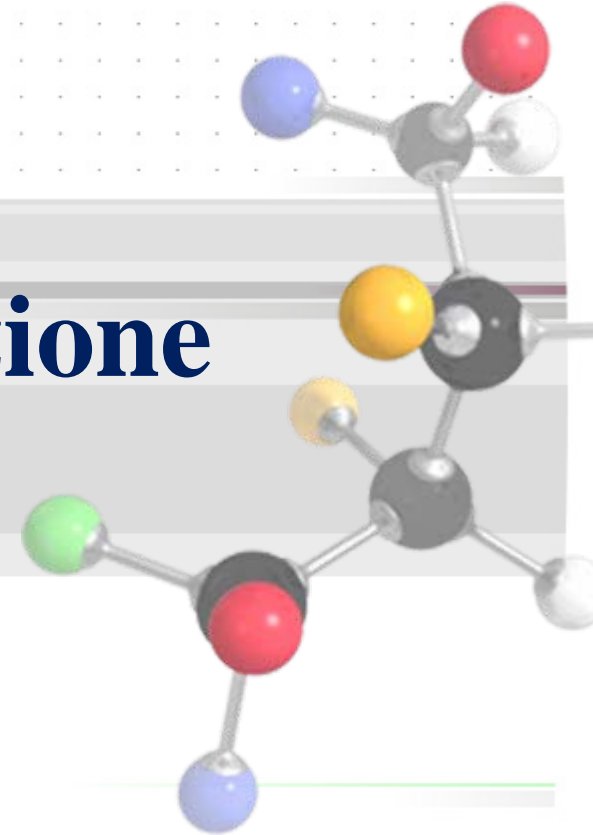
Grazie per l'attenzione



P R E V I E N I



Salute riproduttiva e contaminanti



Biomarker di esposizione umana: risultati preliminari