

La valutazione dei rischi alimentari ed ambientali per l'età evolutiva

Alberto Mantovani,

Dip. Sanità Alimentare ed Animale

Istituto Superiore di Sanità

alberto@iss.it

<http://progetti.iss.it/inte/>

VALUTAZIONE DEL RISCHIO TOSSICOLOGICO: UN PROCESSO A 4 FASI

- **HAZARD IDENTIFICATION**

(Identificazione degli Effetti Avversi)

- *Aspetto Qualitativo: Cosa Fa?*

- Che Effetti induce la Sostanza ?

Che Tessuti/organi colpisce ?

Con Quali Meccanismi ?

Tossicità a dosi ripetute: effetti tossici, organi e/o tessuti bersaglio

Tossicità cronica: effetti cumulativi o a lunga latenza, insieme a

Cancerogenesi (aumento dell'incidenza e/o malignità).

Per comprendere un effetto cancerogeno, la **Genotossicità** (presenza e tipo di interazioni con il patrimonio genetico)

Tossicità riproduttiva (2 generazioni): effetti sul ciclo riproduttivo, infanzia e maturazione sessuale

(l'unico protocollo sperimentale standard in cui vi è una esposizione completa per l'intero sviluppo)

Tossicità prenatale: effetti sulla gravidanza, malformazioni congenite

Crescente interesse (effetti sull'*infanzia* !) per alcuni tipi di effetti specifici: neurotossicità, immunotossicità.

Un punto critico nella valutazione del rischio tossicologico.

La caratterizzazione delle **conseguenze a lungo termine** delle esposizioni nelle **prime fasi della vita** (sia in utero che durante l'infanzia)

Cruciale, ad es., per gli **interferenti endocrini**

COSA SONO ?

<http://www.endodisru.iss.it>

un eterogeneo gruppo di sostanze caratterizzate dal potenziale di interferire con il funzionamento del sistema endocrino attraverso svariati meccanismi e bersagli (recettoriali, metabolici, ecc.)

Contaminanti persistenti (es., PCB)

Pesticidi (es., clorororganici, triazine, triazoli, etilene bisditiocarbammati)

Sostanze di uso industriale (es., ftalati, ritardanti di fiamma.)

Anabolizzanti ormonali

Metalli

ESEMPI (nostri studi sperimentali) (1, 2)

Esposizione **prenatale** ai pesticidi

Lindano: composto persistente con effetti endocrini complessi (come i PCB, altri insetticidi clorurati..)

➤ Parametro critico: qualità ed integrità dei gameti maschili alla maturità sessuale

Tiofanato metile: fungicida “poco tossico” ma metabolizzato a benzimidazoli

➤ allo svezzamento alterazioni “sottili” a carico di tiroide e corticosurreni

(significato funzionale a lungo termine ?)

In assenza di effetti su crescita e sviluppo

ESEMPI DA STUDI SPERIMENTALI (3-5)

Alterata differenziazione dei dotti terminali della ghiandola mammaria in ratti femmine esposte in utero a PCB 126 (PCB “diossina-simile”) o TCDD (la “diossina di Seveso”), Bisfenolo A (additivo di plastiche, resine, amalgami dentali, “estrogeno debole”) alla maturità sessuale

(alterazione potenzialmente correlabile anche ad un’ aumentata suscettibilità a tumori)

L'esempio Sindrome da Disgenesi testicolare

Esposizione **prenatale** (alimenti, ambiente) ad una miscela di xenobiotici con effetti

estrogenici: cellule del Sertoli: calo della qualità del seme maschile, aumentato rischio di seminomi

#

antiandrogeni: cellule del Leydig: aumentato rischio di ipospadia e criptorchidismo

Motivata da trend temporali e spaziali confermati da (6) e da studi sperimentali (ftalati) (7)
ma manca una chiara correlazione con marcatori di esposizione

RELAZIONE DOSE-RISPOSTA

Aspetto Quantitativo

- A che livelli di esposizione si osserva un dato effetto ?
- Quale *l'Effetto Critico* (che si vede a livelli di esposizione minori) ?
- (se proteggo dall'effetto critico proteggo anche dagli altri effetti)

- - **L**(owest) **O**(bserved) **E**(ffect) **L**(evel): il più basso livello di dose (esposizione) in cui è osservabile un effetto.
- - **N**(o) **O**(bserved) **E**(ffect) **L**(evel): il più alto livello di dose (esposizione) in cui vi è assenza di effetti osservabili.
- In genere: espressi come mg/kg peso corporeo/giorno
- - LOEC e NOEC (Concentration): nelle matrici (mg/l, etc.)

UNA VALUTAZIONE DELL'EFSA (<http://www.efsa.eu.int>)

Monensin (antiparassitario zootecnico) (NOEL)

Danno epatico (cane): 5 mg/kg

Danno al miocardio (cane): < 5 mg/kg

Riduzione leucociti (cronica): 1,2 mg/kg

Riduzione della crescita (cronica): 1,1 mg/kg

Funzionalità miocardio (effetto acuto): 0,345 mg/kg

VALUTAZIONE DELLA ESPOSIZIONE

Quanta sostanza rischio di assumere ?

- Per quali vie ? (inalatoria, cutanea, orale..)
- In quali situazioni ? lavoro, ambiente, alimentazione..

Quale sostanza ? (ad es., possono essere importanti i prodotti di degradazione ambientale)

Qual'è la *esposizione interna* ?

Assorbimento/metabolismo ➡

biomarcatori di esposizione

ESEMPIO (8)

Non sottovalutiamo l'esposizione della popolazione generale a pesticidi:

Presenza generalizzata di metaboliti di insetticidi organofosforici (potenzialmente neurotossici) nelle urine di bambini (6-7 anni) di Siena

POSSIBILE SCENARIO

Residui negli alimenti ?

Valori correlati significativamente a **disinfestazioni effettuate in casa o fuori** nel mese precedente

Che vuol dire “Pesticidi” ?

Differenti sostanze =

Differenti

- usi e coltivazioni
- diffusione/persistenza ambientali
- tipi di derrate (vegetali/animali) che presentano residui
- entità dell’esposizione e tipologia dei gruppi esposti

ESPOSIZIONE ED ALIMENTAZIONE

Contaminanti persistenti, liposolubili e bioaccumulano: *DDT e suoi metaboliti, Diossine, PCB, Insetticidi clorurati*

Pesci di grossa pezzatura (in alto nella catena alimentare)

Latte/latticini, carne suina (grassi)

Sostanze che **persistono nei sedimenti**
(*organostannici, alchilfenoli, metalli*):

Molluschi, pesci

ESEMPIO: PCB negli alimenti di origine animale - AMBIENTE

Aree con improprio smaltimento dei
rifiuti industriali (Caffaro - BS):
suolo/foraggi/latte

Uso di fanghi di depurazione per
concimare

Bovini/ovini al pascolo: vita
prolungata/accumulo; ingestione di
suolo (oltre 100 kg/anno un bovino !)

Contaminazione alimenti di origine animale - AMBIENTE

Per saperne di più sulla vicenda
italiana "Caffaro"

<http://www.aslbrescia.it/mc/refinale%20cts.htm>

PCB e alimenti di origine animale- MANGIMI

Contaminazione di materie grasse per mangimi (polli Belgio: rintracciare la filera !)

Acquacoltura (salmonidi, spigola): oli di pesce/mangime/bioaccumulo

Omega 3 e PCB: apporto insignificante alla contaminazione complessiva, MA

PCB Riducono effetti protettivi

ESPOSIZIONE: specificità dell'età evolutiva

dipendenza dall'organismo materno, quindi

Passaggio transPlacentare

Passaggio nel latte materno (sostanze che bioaccumulano nei grassi)

“Fase-specificità”

☛ Identificare la popolazione esposta nella fase di maggiore suscettibilità

(ad es., per l'induzione di una patologia dello sviluppo)

ESEMPIO: PCB E SVILUPPO NEUROLOGICO

L'esposizione prenatale a PCB
è correlata a deficit dello sviluppo neurologico
di **modesta entità** (memoria, comprensione
verbale, lettura..) ma potenzialmente con alta
incidenza e persistenza

(9)

Le evidenze sono **minori** per l'esposizione
neonatale **nonostante** il consistente passaggio di
PCB nel latte materno

Neonato **più esposto ma meno suscettibile**
rispetto al feto

CARATTERIZZAZIONE DEL RISCHIO

Quale popolazione e' più esposta ?

e/o

Quale popolazione è più suscettibile ?

se proteggo questa/e popolazione/i

proteggo anche la popolazione generale

- **Dose di riferimento** (*Reference dose, RfD*)
livello di esposizione con assenza di effetti apprezzabili sulla salute (nei limiti delle conoscenze disponibili)
- ➡ NOEL/fattori di sicurezza (in genere 100; maggiore per gravità di effetti e lacune nei dati)

- ADI (Admissible Daily Intake):

RfD orale, cronica, per additivi/pesticidi

- TD(W)I (Tolerable Daily/Weekly Intake):

RfD orale, cronica, per contaminanti

- Concentrazioni Massime Ammissibili

- (Es. Limiti Massimi di Residui, per pesticidi, additivi e farmaci zootecnici)

per garantire esposizione al di sotto di RfD

Attenzione all'INFANZIA

Vulnerabilità generale:

maggiore consumo di alimenti/acqua,
ritmo respiratorio, contatto col suolo,
immaturità dei sistemi metabolici,
minore cognizione dei rischi

Suscettibilità specifica

Maturazione di organi e sistemi:

**nervoso, immunitario, endocrino,
riproduttivo**

Strategia della Commissione Europea
“Environment and Health” (2004-10)
<http://www.environmentandhealth.org>

Priorità ai rischi ambientali per l’infanzia, in quanto
fascia più vulnerabile e futuro della società

Si concentra su alcuni gruppi di patologie
disturbi comportamentali, asma/patologie respiratorie,
tumori infantili

e di contaminanti con potenziale esposizione integrale
(prenatale, ambiente esterno/domestico, dieta..)

diossine/PCB, metalli pesanti, ed inoltre

“endocrine disruptors/endocrine disruption”

Endocrine disruptors/disruption nella *“Environment and Health Strategy”*

Considerare **sia le sostanze**

(compresi “ormoni” endogeni ed esogeni)

(come selezionare priorità per il monitoraggio ?)

sia effetti su base endocrina

Esempi: ipospadia/criptorchidismo; ipotiroidismo neonatale; pubertà precoce; seminoma; cancro mammario

(fattibile sorveglianza; fattori di rischio precoci)

sia segnali dagli ecosistemi (vitellogenina..)

Obiettivi della “*Environment and Health Strategy*”

Integrare le filiere di dati su fattori di rischio ambientali e quelle su patologie potenzialmente correlate

Armonizzare la qualità dei dati ed i metodi per ottenerli, raccogliarli ed analizzarli

Favorire l’**interazione** fra programmi di monitoraggio e progetti di ricerca, potenziando le basi di conoscenze per la prevenzione

per identificare le **reali priorità** per la sorveglianza e l’intervento

Hazard Identification per gli effetti sull'età evolutiva

Il test a 2 generazioni (OECD 416) è l'unico test tossicologico in cui un organismo è esposto continuamente dallo stadio di zigote sino alla maturità sessuale.

Ideale per lo studio di effetti a lungo termine sullo sviluppo/maturazione dei sistemi endocrino/riproduttivo/nervoso/immunitario

Problema: troppi parametri !

Occorre indirizzare il test verso la caratterizzazione degli effetti critici con saggi di screening

Elaborare strategie di test preliminari (preferibilmente in vitro/in silico) che indirizzino gli studi a lungo termine.

Es., per effetti sull'apparato riproduttivo maschile:

- **tossicità d'organo** (gonociti, cellule del Sertoli, del Leydig..)
- **Effetti sull'omeostasi degli steroidi** (legame ai recettori/transattivazione/modulazione enzimatica)
- **Integrati da QSAR, tossicogenomica, sistemi metabolici**

Uno sviluppo interessante

Effetti nella fase infantile-prepuberale

(crescita e maturazione dei sistemi scheletrico e nervoso)

(fase di maturazione funzionale “silenziosa” del sistema riproduttivo prima del picco adolescenziale)

(importante ruolo della tiroide)

(ipofisi/surreni ?)

(sistema immunitario ?)

Occorrono più dati con sostanze con diverso meccanismo di azione

ESEMPIO: IE E PUBERTA' PRECOCE

Focolai (*anche in Italia*) per l'uso illegale di anabolizzanti ormonali in zootecnia (omogeneizzati)

Correlazione con livelli di DDE in Belgio in **bambine immigrate** (10)

Ftalati a Portorico in casi senza fattori di rischio (genetici, endocrini..) noti (11)

Studi episodici per un problema di dimensioni...?

VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

Scenari di esposizione e programmi di monitoraggio specifici per l'infanzia

- allattamento al seno e contaminanti liposolubili (come fare una valutazione rischio beneficio ?)
- esposizione in ambienti interni (polvere, giocattoli, cosmetici..)
- esposizione alimentare (alimenti per l'infanzia; prodotti ad alto consumo da parte di bambini e preadolescenti..)

VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

Che biomarcatori ?

Accettati/non invasivi, sviluppati per le sostanze realmente prioritarie..

INDISPENSABILI VALORI DI RIFERIMENTO

(in rapporto a età, sesso, alimentazione, stili di vita..)

**Per COMPRENDERE I DATI DI ESPOSIZIONI
CHE SI VANNO OTTENENDO**

SUSCETTIBILITA' INDIVIDUALE

Su base genetica

Es. per gli interferenti endocrini

Valutare il ruolo di polimorfismi

Ad es., del complesso CYP, es. aromatasi (12)

Su base metabolica (?)

- Alterazioni metaboliche (anche subcliniche) con ricadute sul sistema endocrino (carenza subclinica di iodio, familiarità diabetica, **obesità..**)

ALIMENTAZIONE

Un argomento complesso..

- Dal monitoraggio degli alimenti
- alla valutazione delle esposizioni attraverso la dieta

Ad es. (13): esposizione cumulativa a inibitori dell'acetilcolinesterasi: organofosforici/carbammati)

- Alle interazioni fra residui/contaminanti e componenti naturali, es.:

Oligoelementi (iodio e interferenti endocrini ?)
antiossidanti

STILI DI VITA

Un argomento complesso..

E' sbagliato contrapporre stili di vita e "ambiente":

Gli stili di vita modulano l'esposizione ai fattori di rischio ambientale

- **effetti protettivi di un ambiente domestico ottimale riguardo al rischio di ritardi cognitivi e motori associato al livello di esposizione a PCB e diossine**

(14)

Un messaggio della

Environment Health Strategy

alla ricerca clinica ed epidemiologica

lo sviluppo di *studi di coorte “madre-bambino”*

Con follow-up a lungo termine

utilizzando indicatori di esposizione e di effetto sia

prenatali che postnatali, ed un'accurata

identificazione di possibili cofattori (stili di vita,
sociali, alimentari..)

potranno fornire informazioni importanti sui

fattori di rischio precoci

per effetti a lungo termine sulla salute.

Riferimenti BIBLIOGRAFICI (1)

- 1) Maranghi F. et al. (2003) Histological and histomorphometric alterations in thyroid and adrenals of CD rat pups exposed in utero to methyl thiophanate. *Reproductive Toxicology* 17(5):617-23.
- 2) Traina M.E., et al. (2003) Long-lasting effects of lindane on mouse spermatogenesis induced by in utero exposure. *Reproductive Toxicology* 17: 25-35
- 3) Lewis BC, et al. (2001) In utero and lactational treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin impairs mammary gland differentiation but does not block the response to exogenous estrogen in the postpubertal female rat. *Toxicol Sci.* 62: 46-53.

Riferimenti BIBLIOGRAFICI (2)

- 4) Muto T et al. (2002) Mammary gland differentiation in female rats after prenatal exposure to 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *Toxicology*. 177: 197-205.
- 5) Markey et al. (2001) In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biol Reprod*. 2001 65:1215-23;
- 6) Sharpe RM. (2003) The 'oestrogen hypothesis'- where do we stand now? *Int J Androl*. 26: 2-15

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI (3)

- 6) Aprea C, et al. (2000) Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children. *Environ Health Perspect.* 108: 521-5.
- 7) Mahood et al. (2005) Abnormal Leydig Cell aggregation in the fetal testis of rats exposed to di (n-butyl) phthalate and its possible role in testicular dysgenesis. *Endocrinology*, 146: 613-23
- 8) Jacobson JL, Jacobson SW. (2002) Breast-feeding and gender as moderators of teratogenic effects on cognitive development. *Neurotoxicol Teratol.* 24:349-58.

Riferimenti BIBLIOGRAFICI (4)

- 10) Krstevska-Konstantinova M, et al. (2001), Sexual precocity after immigration from developing countries to Belgium: evidence of previous exposure to organochlorine pesticides. *Hum Reprod.* 16:1020-6
- 11) Colon I et al. (2000) Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect.* 108: 895-900
- 12) Masi L et al. (2001). Polymorphism of the aromatase gene in postmenopausal italian women: distribution and correlation with bone mass and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 86:2263-9.

Riferimenti BIBLIOGRAFICI (5)

- 13) Jensen AF et al. (2003) Cumulative risk assessment of the intake of organophosphorus and carbamate pesticides in the Danish diet. *Food Addit Contam.* 20: 776-85
 - 14) Vreugdenhil HJ et al. (2002) Effects of prenatal PCB and dioxin background exposure on cognitive and motor abilities in Dutch children at school age. *J Pediatr.* 140:48-56.
- .