



ISTISAN CONGRESSI 23|C2

ISSN: 0393-5620 (cartaceo) • 2384-857X (online)

Workshop

Esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute: workshop finale del progetto "PEACH"

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 10 marzo 2023

A cura di
R. Vari e C. La Rocca



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Workshop

**Esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute:
workshop finale del progetto “PEACH”**

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 10 marzo 2023

RIASSUNTI

A cura di
Rosaria Vari e Cinzia La Rocca

Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
23/C2

Istituto Superiore di Sanità

Esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute: workshop finale del progetto "PEACH". Istituto Superiore di Sanità. Roma, 10 marzo 2023. Riassunti.

A cura di Rosaria Vari e Cinzia La Rocca

2023, v, 29 p. ISTISAN Congressi 23/C2

I pesticidi possono agire come interferenti endocrini inducendo effetti avversi in sottogruppi di popolazione vulnerabili come i bambini. Precedenti osservazioni effettuate in aree caratterizzate da attività agricola intensiva dell'Italia Centrale (Regione Marche), dimostrano un incremento nella comparsa di telarca precoce nelle bambine. Sulla base di queste indicazioni, il progetto ha inteso sviluppare un modello per la valutazione dell'esposizione dei bambini ai pesticidi ed effetti sulla salute. L'approccio integrato ha incluso: i) uno studio caso controllo sul telarca precoce nelle bambine; ii) la raccolta dati sullo stile di vita e abitudini alimentari delle bambine; iii) l'analisi di multiresidui di pesticidi nelle urine delle bambine e in gruppi di alimenti; iv) l'assunzione di pesticidi attraverso il consumo di prodotti locali da parte delle bambine; v) la valutazione degli effetti tossicologici di 3 principali pesticidi su modello cellulare umano di mammella, come organo target. Il modello sviluppato può rappresentare uno strumento per la valutazione del rischio.

Parole chiave: Telarca precoce, Pesticidi, Bambine, Modello *in vitro*

Istituto Superiore di Sanità

Pesticides exposure and health effects in children: final workshop of the project "PEACH". Istituto Superiore di Sanità. Roma, March 10, 2023. Abstract book.

Edit by Rosaria Vari and Cinzia La Rocca

2023, v, 29 p. ISTISAN Congressi 23/C2 (in Italian and in English)

Pesticides may act as endocrine disruptors inducing adverse effects in vulnerable subgroups as children. Previous observations from areas characterized by intensive agricultural practices in Central Italy (Marche Region), evidenced an increased onset of precocious thelarche in infant girls. Prompted by this data, the project aimed to develop a model to evaluate children exposure to pesticides and health outcomes. The integrated approach included: i) a case-control study on precocious thelarche in girls; ii) collection of girls lifestyle and food habits data; iii) multiresidues pesticides analysis on urine samples and in food groups; iv) girls pesticides dietary intake; v) toxicological hazard of three main pesticides on human breast cells as target organ. The developed model may represent a tool for the risk assessment.

Key words: Precocious thelarche, Pesticides, Children, *In vitro* Model

Responsabile scientifico: Cinzia La Rocca

Per informazioni su questo documento scrivere a: rosaria.vari@iss.it

Il Rapporto è disponibile online sul sito di questo Istituto: www.iss.it

Il progetto "Approccio integrato per la valutazione dell'esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute", (coordinamento ISS in collaborazione con Università di Teramo e Ospedale di Civitanova Marche (MC)) è stato finanziato dal Ministero della Salute, RF-2016-02364628.

Citare questo documento come segue:

Vari R, La Rocca C (Ed.). *Esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute: workshop finale del progetto "PEACH". Istituto Superiore di Sanità. Roma, 10 marzo 2023. Riassunti.* Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2023 (ISTISAN Congressi 23/C2).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Silvio Brusaferrò*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 119 del 16/5/2014 (cartaceo) e n. 120 del 16/5/2014 (online)

Direttore Responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Patrizia Mochi e Cristina Gasparrini*

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

© Istituto Superiore di Sanità 2018

Viale Regina Elena, 299 – 00161 Roma



INDICE

Programma	iii
Note per la Consultazione	v
Sessione Presentazioni	1
Sessione Poster	15
Indice degli autori	29

PROGRAMMA

Venerdì 10 marzo 2023

- 09.45 Registrazione dei partecipanti
- 10.00 Coffee break
- 10.20 Indirizzo di benvenuto
Elena Ortona
Direttrice Centro di Riferimento di Medicina di Genere

Prima Sessione

PRESENTAZIONE DEI RISULTATI DEL PROGETTO

Moderatori: Sabrina Tait e Roberta Masella

- 10.30 *Il progetto PEACH*
Cinzia La Rocca
- 10.40 *Dall'analisi del territorio all'ipotesi del progetto PEACH*
Lorella Ciferri
- 11.00 *Interferenti endocrini e anticipi puberali: il progetto PEACH*
Enrica Fabbrizi
- 11.20 *Il progetto PEACH: livelli di pesticidi negli alimenti dell'area di studio*
Maria Perugini
- 11.40 *Esposizione infantile a pesticidi attraverso la dieta nel progetto PEACH*
Cinzia La Rocca
- 12.00 *Valutazione degli effetti tossicologici di pesticidi in linee cellulari di mammella nel progetto PEACH*
Lucia Coppola
- 12.20 Discussione
- 12.40 Pausa pranzo
- 13.10 Presentazione Poster

Seconda Sessione

PESTICIDI E IMPATTO SULLA SALUTE

Moderatori: **Enrica Fabbrizi e Luca Busani**

- 14.00 *Immunotossicità dei pesticidi: quali le evidenze nell'uomo*
Emanuela Corsini
- 14.20 *Valutazione tossicologica delle miscele di pesticidi e loro prioritizzazione*
Sabrina Tait
- 14.40 *Studio degli Interferenti endocrini nel latte materno e dintorni:
Il Progetto LIFE-MILCH*
Maria Elisabeth Street
- 15.00 *Ruolo dei pesticidi nel tessuto adiposo:
relazione con l'obesità in età pediatrica*
Annalisa Deodati
- 15.20 *Utilizziamo le sostanze naturali per vincere la competizione
con i parassiti delle piante*
Natale Reda
- 15.40 *La valutazione del rischio nel rapporto sui risultati
dei controlli di residui di pesticidi in alimenti*
Roberta Aloï
- 16.00 *Discussione e Chiusura dei lavori*

NOTE PER LA CONSULTAZIONE

Il presente lavoro raccoglie tutti i contributi presentati al Workshop “Esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute: workshop finale del progetto PEACH”. Per comodità di consultazione gli abstract dei relatori del workshop sono presentati nella Sessione Presentazioni seguendo l’ordine del programma. Nella Sessione Poster sono presenti gli abstract dei poster presentati al workshop.

Sessione Presentazioni

APPROCCIO INTEGRATO PER LA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE DEI BAMBINI A PESTICIDI E EFFETTI SULLA SALUTE: IL PROGETTO PEACH

Cinzia La Rocca

Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Diversi pesticidi sono utilizzati in agricoltura per garantire la produzione alimentare, ma potendo causare anche effetti indiretti sull'uomo il loro utilizzo è strettamente regolamentato. Evidenze scientifiche valutate in studi animali e sull'uomo suggeriscono che l'esposizione ai pesticidi con caratteristiche di interferenti endocrini può essere considerata un importante fattore di rischio associato a pubertà precoce e telarca prematuro. La modificazione dei tempi di comparsa di marcatori dello sviluppo puberale coinvolge 1 bambino ogni 5.000 o 10.000 a seconda delle casistiche ed è più comune nelle bambine. Tale evento è ritenuto indicativo di possibili conseguenze a lungo termine sulla salute, per un aumentato rischio nei confronti di patologie riguardanti i disturbi della crescita e del comportamento, l'obesità, il cancro ovarico e della mammella. La popolazione generale può essere esposta a residui di pesticidi per via alimentare, che, sebbene al di sotto dei limiti massimi consentiti (MRLs) negli alimenti, destano interesse proprio perché in qualità di interferenti endocrini sono in grado di agire a concentrazioni molto basse e dunque oggetto di ricerca scientifica per eventuale aggiornamento di parametri tossicologici di riferimento. Il progetto "Approccio integrato per la valutazione dell'esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute" (PEACH), finanziato dal Ministero della Salute (Ricerca Finalizzata RF-2016-02364628) ha affrontato con un approccio integrato la valutazione della possibile associazione dell'esposizione a multiresidui di pesticidi con il telarca prematuro idiopatico, focalizzando l'attenzione su aree dell'Italia Centrale (Regione Marche) caratterizzate da attività agricola intensiva, nelle quali osservazioni mediche segnalano un incremento di casi di telarca prematuro idiopatico. Il progetto ha incluso: i) uno studio caso-controllo; ii) la raccolta dati sullo stile di vita e consumo di alimenti da parte delle bambine attraverso un questionario; iii) il campionamento di alimenti prodotti in ambito locale sulla base delle informazioni desunte dal questionari; iv) l'analisi di multiresidui di pesticidi nelle urine delle bambine, compresi i metaboliti, e nei gruppi di alimenti campionati; v) l'assunzione di pesticidi attraverso la dieta delle bambine; vi) la valutazione degli effetti tossicologici di alcuni principali pesticidi a concentrazioni reali di esposizione della popolazione infantile su modello cellulare umano di mammella, quale organo specifico coinvolto nel telarca prematuro. Ognuno degli aspetti del progetto con risultati ottenuti, criticità e prospettive future viene illustrato durante lo svolgimento del workshop.

DALL'ANALISI DEL TERRITORIO ALL'IPOTESI DEL PROGETTO PEACH

Lorella Ciferri

Pediatra di Libera Scelta AST, Fermo, Ancona

Uno studio epidemiologico sulle patologie endocrine in età pediatrica condotto da un'endocrinologa pediatra con la collaborazione di un gruppo di pediatri di famiglia in un'area del Centro Italia vocata ad agricoltura e artigianato ha rilevato un aumento di incidenza negli ultimi anni di casi di pubertà precoce e di telarca prematuro idiopatico. È stata sottoposta all'attenzione dei ricercatori la tendenza dei casi all'aggregazione spaziale e temporale in particolare in una zona storicamente dedicata all'agricoltura. L'analisi del territorio evidenzia una interessante complessità di aspetti dovuta alle sue caratteristiche geomorfologiche ma soprattutto alla coesistenza dei caratteri rurali di un'Italia antica con le rapide trasformazioni indotte dalla transizione ad un'agricoltura di tipo industriale. Retaggio di un sistema mezzadrile sopravvissuto per secoli e abbandonato più tardivamente e lentamente rispetto ad altre regioni sono l'insediamento sparso con conseguente bassa densità di popolazione, un elevato numero di piccole imprese agricole a conduzione diretta, e la persistenza di orti familiari. D'altro canto l'industrializzazione diffusa, le nuove richieste di un mondo globalizzato e la pressione dell'innovazione tecnica hanno indotto anche in una realtà agraria antica come questa in esame profonde trasformazioni strutturali con conseguenti cambiamenti negli stili di vita e nelle abitudini alimentari. Il crescente impiego di fitofarmaci, che deve soddisfare le esigenze di una aumentata produttività, ne è l'aspetto emergente e in questi ultimi anni all'attenzione della comunità scientifica per i suoi effetti noti e/o sospetti sulla salute umana. Nel nostro studio epidemiologico è stata condotta un'anamnesi ambientale che rilevava per i casi segnalati di pubertà precoce e di telarca prematuro un utilizzo di pesticidi (o per pratiche agricole o per uso domestico), alcuni dei quali già classificati come Interferenti Endocrini (ECDs). Dall'analisi dei ricercatori sui dati raccolti sul territorio e dalla loro validazione nasce l'ipotesi di un progetto di ricerca finalizzato allo studio di una possibile correlazione tra esposizione a pesticidi e anticipo puberale.

ESPOSIZIONE DEI BAMBINI AI PESTICIDI E EFFETTI SULLA SALUTE: WORKSHOP FINALE DEL PROGETTO PEACH

Enrica Fabbrizi

Dirigente Medico Responsabile della UOSD Pediatria, Ospedale di Civitanova Marche AST Marche, Macerata

La pubertà è un processo complesso che coinvolge fattori genetici, metabolici, etnici, geografici ed ambientali. Il meccanismo che determina l'attivazione puberale rimane, ad oggi, non ancora ben noto. Negli ultimi anni l'età di insorgenza dello sviluppo puberale ha subito considerevoli cambiamenti con costante trend di anticipo. L'esposizione a contaminanti ambientali e alimentari tra cui i pesticidi rappresenta un fattore di rischio associato alla diminuzione dell'età dello sviluppo. Il progetto PEACH ha avuto lo scopo valutare l'esposizione a pesticidi nelle bambine, integrando i dati derivanti dallo studio caso-controllo, dall'analisi degli alimenti e dallo studio tossicologico. Nello studio caso-controllo sono state arruolate 60 bambine con telarca prematuro idiopatico in accordo ai criteri di inclusione (età: 2-7 anni; sviluppo mammario Stadio II di Tunner; assenza di altri segni di pubertà; statura normale, velocità di crescita, età ossea ed ecografia pelvica indicativi di fase prepubere; $10^{\circ}pc < BMI > 75^{\circ}pc$; nessuna terapia concomitante); sono stati determinati i livelli sierici dei seguenti ormoni: estradiolo; GnRH test; alfa fetoproteina; beta-HCG; fattore anti mulleriano, tiroidei e surrenalici, mediante kit Elisa. Appaiate per età alle bambine con telarca sono state reclutate 60 bambine sane per il gruppo di controllo, secondo i seguenti criteri di inclusione età: 2-7 anni; sviluppo mammario Stadio I di Tunner, 10° percentile $< BMI > 75^{\circ}$ percentile; dopo acquisizione del consenso informato, è stato compilato il questionario FFQ e il diario alimentare ed è stato raccolto un campione di urina da ogni soggetto arruolato. I campioni di urina congelati sono stati inviati all'Università di Teramo (UO3 del progetto) per le analisi e i questionari all'Istituto Superiore di Sanità (UO1) per l'acquisizione dei dati. Dall'elaborazione dei dati relativi al luogo di acquisto degli alimenti consumati dalle bambine, si è provveduto all'acquisto di alimenti della stagione estiva e della stagione invernale. Abbiamo dedicato particolare attenzione ai dati riguardanti la sede di acquisto degli alimenti per l'individuazione di prodotti locali e la segnalazione puntuale della coltivazione o allevamento di tale prodotto in orti/allevamenti privati. Nel caso di orti privati sono state acquisite informazioni sull'utilizzo di pesticidi nel corso della coltivazione. Completato il campionamento di ogni categoria alimentare i campioni sono stati inviati all'UO3 per le analisi dei pesticidi. Le analisi di pesticidi e metaboliti non hanno dimostrato differenze nelle urine tra i casi ed i controlli ma le criticità riscontrate e le conoscenze acquisite rappresentano un contributo e un supporto per la prosecuzione ancor più mirata della ricerca. Riteniamo dunque il nostro studio un punto di partenza e non di arrivo per la valutazione delle cause di anticipo puberale legato a fattori ambientali.

IL PROGETTO PEACH: LIVELLI DI PESTICIDI NEGLI ALIMENTI DELL'AREA DI STUDIO

Monia Perugini

Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi, Teramo

L'obiettivo principale del progetto PEACH è stato quello di valutare l'associazione tra esposizione a pesticidi e telarca precoce idiopatico nelle ragazze, attraverso la misurazione dei pesticidi nelle urine e l'assunzione con la dieta, analizzando alimenti di produzione locale. Dalle analisi effettuate diversi pesticidi sono stati rilevati in frutta e verdura campionati nelle aziende agricole locali ed in misura minore in quelli provenienti dagli orti privati. Tra tutte le altre categorie di alimenti analizzati solo l'olio ha riportato la presenza di alcune molecole. I livelli di pesticidi ritrovati sono comunque al di sotto dei limiti massimi residuali.

ESPOSIZIONE INFANTILE A PESTICIDI ATTRAVERSO LA DIETA NEL PROGETTO PEACH

Cinzia La Rocca

Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Lo studio caso-controllo del progetto PEACH ha avuto una duplice finalità: i) quella di valutare l'esposizione interna a pesticidi e relativi metaboliti in associazione con il telarca prematuro idiopatico; ii) quella di valutare un'esposizione delle bambine attraverso il consumo di alimenti prodotti e acquistati nelle aree in studio. Mediante il questionario di frequenza alimentare sono stati raccolti dati su età, peso corporeo del soggetto e sull'ambiente di residenza (presenza di campi coltivati, orto e relativa distanza dall'abitazione) nonché, per ogni alimento appartenente alle categorie carne, verdura, frutta, pesce, olio, miele, latte e derivati, cereali, dati su frequenza di consumo, porzione consumata, e luogo di acquisto, specificando se azienda agricola o orto, al fine di produrre un piano di campionamento di alimenti locali. Elaborando i dati di consumo insieme ai livelli di residui di pesticidi misurati negli alimenti prodotti localmente è stata calcolata l'esposizione delle bambine arruolate (120 tra casi e controlli, età 3-7 anni) ad ogni residuo di pesticida determinato, comparata l'esposizione ad ogni pesticida presente in più alimenti di una stessa categoria con la dose giornaliera accettabile (Acceptable Daily Intake, ADI, parametro tossicologico di riferimento) stabilita per quel pesticida, e valutata l'associazione con il telarca prematuro idiopatico. Data la scarsa numerosità dei pesticidi con livelli determinati rispetto al numero di pesticidi analizzati (N=700) risultanti sotto al limite di quantificazione (LOQ), si è considerato uno scenario espositivo *lower bound* (LOQ=0). I residui dosati avevano un valore al di sotto del limite massimo stabilito, ma considerati d'interesse tossicologico per le caratteristiche di interferenza endocrina. L'esposizione è stata comparata con quella ottenuta utilizzando i livelli di residui determinati dalle attività del Piano Nazionale Residui per gli stessi pesticidi e matrici determinati dal progetto, resi disponibili dal Ministero della Salute. I livelli di esposizione sono risultati inferiori all'ADI quindi non rappresentano un rischio per la salute sulla base delle attuali conoscenze. Tuttavia, poiché in uno stesso alimento e nella categoria alimentare di appartenenza sono stati determinati più residui, è stata valutata l'esposizione alla miscela di pesticidi raggruppandoli per classe chimica, assumendo che, in assenza di sufficienti informazioni sugli effetti comuni, la struttura chimica simile determini un simile meccanismo di azione. I risultati dimostrano che esiste un'esposizione a residui di pesticidi per i quali gli studi sperimentali attestano l'interferenza endocrina e la loro presenza in miscela sottolinea la necessità di proseguire le attività per la definizione di metodologie per la valutazione del rischio cumulativo.

ESPOSIZIONE DEI BAMBINI AI PESTICIDI E EFFETTI SULLA SALUTE: WORKSHOP FINALE DEL PROGETTO PEACH

Lucia Coppola

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma, Roma

L'esposizione ai pesticidi desta molte preoccupazioni per la salute umana dato l'elevato numero di comorbidità associate, come il cancro, le malattie cardiovascolari e riproduttive, tra cui il telarca prematuro. Diversi pesticidi sono definiti Interferenti Endocrini (IE) perché possono alterare il sistema ormonale. I bambini, a causa del loro stadio di sviluppo, del particolare stile di vita e delle abitudini alimentari, sono più suscettibili agli effetti degli IE. Uno degli obiettivi del progetto "Approccio integrato per valutare l'esposizione dei bambini a pesticidi e effetti sulla salute" è stato quello di valutare gli effetti tossicologici di Clorpirifos (CPF), Imidacloprid (IMI) e Glifosato (GLY) su due linee cellulari di ghiandola mammaria umana, MCF-7, di tipo tumorale, e MCF-12A, non tumorale, quale organo bersaglio della patologia. Per valutare gli effetti sulla vitalità cellulare, sul metabolismo e sull'attività endocrina, entrambe le linee cellulari sono state trattate con i tre pesticidi a concentrazioni di esposizione nei bambini. I risultati dello studio hanno mostrato che i pesticidi hanno ridotto la vitalità nelle cellule MCF-7 e la proliferazione nelle cellule MCF-12A. I livelli di ATP sono stati ridotti nelle cellule MCF-7 mentre l'apoptosi è aumentata nelle cellule MCF-12A solo con il GLY (2,3nM). I tre pesticidi hanno ridotto la produzione di ROS in entrambe le linee cellulari, ad eccezione dell'IMI (1,6nM) nelle cellule MCF-7. L'attività di interferenza endocrina è stata evidenziata dall'induzione della secrezione di 17- β -estradiolo e dalla modulazione dell'espressione genica dei recettori estrogenici alfa e beta, progesterone, androgeno e arilico. Infine, per lo studio *in vitro* è stato messo a punto un sistema di coltura cellulare 3D che riproducesse la fisiologia della ghiandola mammaria *in vivo* mediante un sistema ad idrogel e uno magnetico. Questo studio ha evidenziato che i tre pesticidi hanno effetti non sovrapponibili per gli *endpoint* valutati, ma tutti hanno mostrato attività di interferenza endocrina. Sebbene non sia stato possibile trarre conclusioni definitive relativamente allo sviluppo della ghiandola mammaria, i risultati destano preoccupazione per gli effetti avversi associati all'esposizione a questi composti, soprattutto in gruppi di popolazione vulnerabili come i bambini. Entrambe le linee cellulari si sono rivelate modelli adatti e sensibili per valutare gli effetti dei pesticidi; in particolare, la linea cellulare MCF-12A può essere considerata un modello valido in quanto rappresentativa delle condizioni fisiologiche. Infine, il modello 3D magnetico rappresenta uno strumento adatto per studiare gli effetti delle sostanze chimiche, fornendo una metodologia e condizioni sperimentali più riproducibili.

IMMUNOTOSSICITÀ DEI PESTICIDI: QUALI LE EVIDENZE NELL'UOMO

Emanuela Corsini,

*Laboratorio di Tossicologia, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari
Rodolfo Paoletti, Università degli Studi, Milano*

L'uso dei pesticidi è stato associato alla crescente prevalenza di malattie associate ad alterazioni della risposta immunitaria, quali reazioni di ipersensibilità, malattie autoimmuni e lo sviluppo di neoplasie. Lo scopo di questa presentazione è aggiornare le evidenze dell'immunotossicità dei pesticidi. Anche se i dati sperimentali e sporadici studi sull'uomo indicano che alcuni pesticidi possono influenzare il sistema immunitario, nel complesso, ulteriori studi sono necessari e dovrebbero essere preferibilmente condotti attraverso il confronto dei risultati pre- e post-esposizione nello stesso gruppo di soggetti con un gruppo di controllo abbinato. Gli studi disponibili sugli effetti dei pesticidi sul sistema immunitario umano presentano diversi limiti tra cui scarsa indicazione sui livelli di esposizione, esposizioni chimiche multiple, eterogeneità dell'approccio e difficoltà nel dare un significato prognostico ai lievi cambiamenti spesso osservati.

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DELLE MISCELE DI PESTICIDI E LORO PRIORITIZZAZIONE

Sabrina Tait

Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Tutti noi siamo esposti a molte sostanze chimiche contemporaneamente, attraverso la dieta, gli stili di vita o il luogo di lavoro. Fra queste, i pesticidi sono frequentemente presenti in miscela per via del trattamento simultaneo con più principi attivi degli stessi tipi di coltivazioni. Nonostante ogni sostanza sia singolarmente regolamentata, gli effetti combinati che possono derivare dalla loro presenza in miscela non sono noti. Inoltre, il numero di miscele possibili è elevato ed è difficile stabilire quali valutare. Certamente le miscele a cui la popolazione è più frequentemente esposta e che potenzialmente potrebbero arrecare danni alla salute sono quelle di maggior interesse, anche dal punto vista regolatorio. La valutazione tossicologica di tali miscele, anche attraverso metodi alternativi *in vitro*, consente di definire se i composti presenti siano in grado di determinare effetti avversi in maniera additiva, sinergica o antagonista. Da tali sperimentazioni, è inoltre possibile definire scale di priorità affinché alcune miscele vengano considerate a maggior rischio rispetto ad altre e quindi valutate con maggior attenzione dalle agenzie regolatorie per l'attuazione di politiche per la tutela della salute umana.

STUDIO DEGLI INTERFERENTI ENDOCRINI NEL LATTE MATERNO E DINTORNI: IL PROGETTO LIFE-MILCH

Maria Elisabeth Street (1), Vassilios Fanos (2), Anna Maria Papini(3), Paola Palanza (1)

(1) Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi, Parma

(2) Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università degli Studi, Cagliari

(3) Dipartimento di Chimica Ugo Schiff, Università degli Studi, Firenze

Il Latte materno al seno rappresenta il nutrimento ideale per il bambino dalla nascita. Diversi studi hanno dimostrato che rappresenta anche un ottimo substrato per studiare l'esposizione ai contaminanti ambientali mettendo in evidenza che si trovano anche sostanze chimiche anche non comunemente normate. Tra i contaminanti vi sono diversi interferenti endocrini, presenti in modo ubiquitario nell'ambiente in cui viviamo, per cui esistono studi che evidenziano effetti negativi sul neuro-sviluppo, sulla crescita, sull'apparato riproduttore e la pubertà, sul metabolismo. Lo studio LIFE-MILCH ha previsto l'arruolamento di circa 800 diadi madre-bambino dal termine della gravidanza, con *follow-up* a 0, 1, 3, 6 e 12 mesi sia per quanto riguarda l'esposizione (alimentazione, lavoro, stile di vita) che il dosaggio nelle urine e siero della mamma, nel latte materno, nelle urine del bambino e nei latti artificiali di 5 diverse classi di interferenti endocrini e dei loro metaboliti, inclusi alcuni pesticidi. I livelli di esposizione verranno messi in relazione con la modalità di crescita, la distribuzione del tessuto adiposo, gli stadi puberali, la distanza ano-genitale e gli *outcome* relativi al neuro-sviluppo e psico-comportamentale valutati tramite specifici test a tutti i punti. Verranno presentati i dati preliminari relativi ai contaminanti evidenziati finora ed i dati che rientreranno nel modello di rischio a cui seguirà una campagna di prevenzione ed una successiva verifica dell'efficacia.

RUOLO DEI PESTICIDI NEL TESSUTO ADIPOSO: RELAZIONE CON L'OBESITÀ IN ETÀ PEDIATRICA

Annalisa Deodati

Dipartimento Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata; UOC di Endocrinologia e Diabetologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Il sistema endocrino gioca un ruolo cruciale in tutti i vertebrati regolando importanti funzioni biologiche come il metabolismo, la riproduzione, il neuro sviluppo e il comportamento. Gli interferenti endocrini (*Endocrine Disruptors*, EDs) sono sostanze che alterano le funzioni del sistema endocrino causando effetti avversi sull'organismo umano e/o la sua progenie e nelle popolazioni (WHO 2002). Queste sostanze possono interferire con il sistema endocrino bloccando e/o attivando recettori ormonali, alterando la fisiologica sintesi o degradazione degli ormoni. In età pediatrica l'esposizione agli EDs è stata correlata al rischio di pubertà precoce e obesità. In Italia circa il 10% dei bambini di età tra i 6-10 anni sono affetti da obesità. Tra gli interferenti endocrini che possono giocare un ruolo nella patogenesi dell'obesità in età pediatrica vi sono i pesticidi. Tali composti comprendono un gruppo eterogeneo di sostanze che vengono utilizzati nelle attività agricole per limitare i parassiti domestici o per la clorazione dell'acqua. L'esposizione a tali sostanze avviene prevalentemente mediante il consumo di cibi contaminati ma può avvenire già nella vita intrauterina nelle madri esposte a tali composti. Gli effetti dei pesticidi sulla salute dell'uomo non si limitano al tempo di rilascio, poiché alcuni pesticidi possono persistere nell'ambiente per mesi o addirittura anni. I metaboliti del DDT hanno la stessa stabilità nell'ambiente e si bioaccumulano nel nostro organismo, in modo analogo ai Policlorobifenili (PCB), e possono essere bioaccumulati nella catena alimentare e infine nell'uomo a causa della loro natura lipofila. Gli studi riportano prevalentemente gli effetti dei pesticidi Organoclorurati (OCP) sulla salute dell'uomo. In particolare, gli organoclorurati e gli organofosforati sono gli insetticidi più studiati e nei quali è stata segnalata una possibile relazione con l'obesità e/o il diabete mellito di tipo nell'uomo e nei roditori. In particolare, i pesticidi possono alterare la funzione del tessuto adiposo, interferendo con la differenziazione e la proliferazione degli adipociti, nonché con l'assorbimento dei lipidi attraverso l'aumento del numero o del volume degli adipociti. Inoltre, i pesticidi possono interferire con il controllo neuroendocrino dell'alimentazione e del metabolismo dei nutrienti, agendo con i centri che regolano la fame e la sazietà. Infatti, queste sostanze sono state definite "obesogene" in base ai loro potenziali effetti sul metabolismo energetico che possono portare all'obesità e alla sindrome metabolica.

ESPOSIZIONE DEI BAMBINI AI PESTICIDI E EFFETTI SULLA SALUTE: WORKSHOP FINALE DEL PROGETTO PEACH

Natale Reda

Dottore Agronomo, Vicepresidente dell'Ordine Regionale Agronomi, Regione Marche

La “sfida” con organismi patogeni o opportunisti per avere alimenti vegetali e animali privi di contaminanti e in quantità sufficiente, non può più autorizzare nelle attività agricole la dispersione di sostanze la cui tossicità conclamata in via acuta o cronica si manifesti su noi stessi o su altri componenti della catena alimentare. Gli imprenditori agricoli italiani vengono informati e formati solo sporadicamente sugli effetti collaterali degli agrofarmaci. Da migliorare l’addestramento alla riduzione dei danni al benessere personale e dei conviventi nell’ambiente. Urge monitorare e preservare i rapporti di equilibrio dinamico nelle comunità biotiche in cui ci consideriamo il più saggio dei componenti. Metodi nuovi e sostanze di origine naturale possono sostituire efficacemente le molecole di sintesi rendendo più sostenibili le produzioni. La loro efficacia e competitività non potrebbe essere garantita solo dagli agricoltori e dalle etichette. Diventa irrinunciabile attivare anche un Servizio Nazionale pubblico di Consulenza fitoiatrica in cui Agronomi fitoiatri siano a disposizione di agricoltori professionisti ed hobbisti.

LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO NEL RAPPORTO SUI RISULTATI DEI CONTROLLI DI RESIDUI DI PESTICIDI IN ALIMENTI

Roberta Aloï

Ministero della Salute, Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione, Ufficio 7, Roma

Il controllo dei residui di pesticidi in alimenti rappresenta una priorità nazionale perché assicura i consumatori in quanto gli alimenti che sono ogni giorno sulla nostra tavola vengono verificati per la presenza delle rimanenze delle sostanze attive utilizzate nei prodotti fitosanitari che sono regolamentate attraverso la fissazione di limiti massimi di residui contenuti nel Regolamento CE 396/2005 e s.m.i. Per poter programmare le attività di controllo deve essere eseguita la valutazione del rischio utilizzando una delle fasi del controllo ufficiale di cui al Regolamento UE 625/2017 che è la rendicontazione. Con tale strumento è possibile verificare il numero, la frequenza degli analiti e dei campioni riscontrati non conformi, è possibile verificare i campioni eseguiti rispetto a quanto programmato. Il report nazionale contiene delle tabelle e grafici con i campionamenti eseguiti delle classi di alimenti che sono costituenti importanti della dieta mediterranea quali la frutta, gli ortaggi, l'olio, il vino e i cereali. Sono riportati i risultati della programmazione nazionale e di quella europea sono riportati anche altre classi di alimenti quali gli alimenti di origine animale, e i baby food. Vengono riportati i risultati dei controlli all'importazione. In particolare, nel 2020 sono stati eseguiti 8.410 campionamenti, il 67,3% di questi campioni non presenta alcun residuo ed una percentuale di questi, molto esigua e pari a 0,96% è risultata essere non conforme. Il 31,7% dei campionamenti presenta residui nei limiti stabiliti dal Regolamento CE n. 396/2005. In totale sono stati ricercati 644 analiti, sono state eseguite 1.449.012 determinazioni e solo 104 determinazioni sono risultate non conformi. I campionamenti sul territorio eseguiti da tutte le Autorità ivi compresi il Comando Carabinieri per la tutela della salute hanno superato il minimale (6.725) previsto dalla programmazione nazionale raggiungendo il numero di 8.200. I campionamenti complessivi compresi i controlli all'importazione hanno riguardato: 4.759 di ortofrutta, 1.202 di cereali olio e vino, 96 di baby e 1.338 hanno riguardato alimenti non compresi nelle precedenti categorie e prelevati in totale da tutte le autorità. Tutte le Regioni hanno eseguito controlli per la verifica della conformità al Regolamento 396/2005. I suddetti risultati sono stati trasmessi all'European Food Safety Authority (EFSA) per la realizzazione del rapporto europeo sui residui di prodotti fitosanitari in alimenti per l'anno 2020. I risultati a livello europeo mostrano, che il 3,6% dei campioni nell'Unione Europea presentano valori superiori ai limiti massimi di residui mentre solo lo 0,96% dei campioni nazionali presentano valori superiori ai limiti massimi di residui quindi al di sotto della media europea. Per concludere i risultati dei controlli dei residui di prodotti fitosanitari sono eseguiti sugli alimenti dall'importazione fino alla fase precedente all'arrivo sulla tavola del consumatore. Vengono eseguiti controlli per quanto programmato, la percentuale di non conformità rimane al di sotto della media europea.

Sessione Poster

ESPOSIZIONE PARA-OCCUPAZIONALE A PESTICIDI E POTENZIALI EFFETTI SULLO SVILUPPO NEUROSENSORIALE DEL FETO: UNA REVISIONE SISTEMATICA

Maria Pia Gatto, Michele del Gaudio, Carmine Piccolo
*INAIL, Istituto Nazionale per l'Assicurazione contro gli Infortuni sul Lavoro, UOT CVR,
Avellino*

Adeguate garanzie legislative sono assicurate in Italia alle donne lavoratrici in gravidanza, o comunque in età fertile, ai fini della tutela della salute dalla esposizione al rischio chimico. Ai sensi dell'art.28 del D.Lgs. 81/08, il datore di lavoro ha l'obbligo di effettuare specifica valutazione dei rischi in base alla quale le lavoratrici in gravidanza, puerperio ed allattamento fino a sette mesi dopo il parto non possono essere adibite a "lavori pericolosi, faticosi ed insalubri", il cui elenco, sebbene non esaustivo, è previsto in allegato al D.Lgs. 151/2001. Più complessa è, invece, la tutela dalla cosiddetta "*take home exposure*" o esposizione para-occupazionale, che si verifica dove non sempre il contesto familiare è chiaramente distinto da quello aziendale o quando l'azienda non provvede alla custodia e al lavaggio degli abiti da lavoro. Data la particolare suscettibilità agli xenobiotici durante la vita fetale, attribuibile alla non completa efficienza delle capacità metaboliche e dei meccanismi fisiologici di detossificazione, nonché alla ridotta massa corporea, c'è crescente preoccupazione circa la potenziale azione neurotossica dei pesticidi, anche a basse dosi. Scopo del presente lavoro è stato quello di sintetizzare le evidenze scientifiche sugli effetti della esposizione prenatale a pesticidi sui deficit neurocomportamentali e sensoriali infantili. Sono stati considerati studi pubblicati su PubMed, Scopus e SpringerLink tra il 2003 e il 2022 in lingua inglese o italiana. Ventuno articoli hanno soddisfatto i criteri di ammissibilità. Nei tredici studi longitudinali sono stati riscontrati deficit cognitivi, comportamentali e motori. Una relazione dose-risposta positiva tra l'esposizione a pesticidi Organofosforati (OPs) e gli esiti dello sviluppo neurologico è stata trovata in tutti tranne uno degli otto studi che hanno valutato dose-risposta, due dei quali evidenziano correlazione tra OPs e deficit della funzione visiva e/o uditiva. Nessuna meta-analisi è stata possibile a causa delle diverse misurazioni della valutazione dell'esposizione e dei risultati. In generale, gli studi esaminati supportano collettivamente l'ipotesi che l'esposizione a pesticidi induca effetti neurotossici. Nell'attesa di ulteriori evidenze, si sottolinea l'importanza della promozione della cultura della prevenzione attraverso la formazione degli operatori, passo fondamentale e necessario per sviluppare la consapevolezza della necessità di tutelarsi attivando procedure di lavoro corrette, quali il contenimento della dispersione dei pesticidi attraverso la decontaminazione degli abiti da lavoro, e, nel caso delle lavoratrici, la tempestiva comunicazione del proprio stato di gravidanza al medico competente e quindi al datore di lavoro, per evitare esposizioni, anche in maniera inconsapevole, a sostanze pericolose presenti sul lavoro.

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DEL GLIFOSATE ASSOCIATO AD UNA CONDIZIONE IPOSSICA NELLE FORME LARVALI DI ZEBRAFISH

William Gentile (1), Annamaria Iannetta (1), Giovanni Angelozzi (1), Leonardo Della Salda (2), Marcella Massimini (2), Michele Amorena (1), Monia Perugini (1)

(1) *Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi, Teramo*

(2) *Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi, Teramo*

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di investigare, utilizzando forme embrionali di zebrafish (*Danio rerio*), la tossicità combinata tra il glifosate, un erbicida molto diffuso in ambiente, e una condizione ipossica indotta con metodo chimico, il cloruro di cobalto (CoCl_2). Lo studio è stato condotto in 2 fasi: nella prima fase, tramite i Fish Embryo Acute Toxicity tests (FET), è stata testata sia la tossicità del glifosate (in condizioni di normossia) che quella del CoCl_2 , mentre nella seconda fase è stata valutata la tossicità del glifosate in una condizione ipossica indotta da CoCl_2 alla concentrazione di 10 mM, al fine di investigare eventuali variazioni della tossicità del glifosate in condizioni di ipossia. I dati derivati dalla valutazione tossicologica sono stati integrati con valutazioni di tipo istologico effettuate su sezioni di tessuti di larve trattate. Inoltre, le larve sono state trattate con un fluorocromo vitale specifico per gli acidi nucleici, l'arancio di acridina (AO) per valutare la presenza di apoptosi cellulare. Tramite i FET tests sono stati calcolati gli end-points tossicologici del glifosate e del CoCl_2 . La CL_{50} del glifosate è risultata pari a 122,9 mg/L (0,73 mM) e quella del CoCl_2 pari a 30,4 mM. Alle concentrazioni testate non è stato invece possibile calcolare la CL_{50} , CL_{20} e CL_{10} per quanto riguarda l'associazione di glifosate e ipossia. Successivamente sono state evidenziate le alterazioni sub-letali quali edema del pericardio, edema del sacco vitellino e stasi ematica, confermate anche dai risultati delle analisi istologiche. I dati preliminari ottenuti, oltre a confermare la tossicità indotta dal glifosate e dal CoCl_2 nelle forme larvali di zebrafish mostrano come, la condizione ipossica nelle prime fasi dello sviluppo potrebbe esercitare un effetto protettivo nei confronti della tossicità indotta dal glifosate. Studi futuri prevedono di investigare anche eventuali cambiamenti a livello molecolare in relazione agli effetti del glifosate in condizioni di ipossia rispetto ad una condizione di normossia.

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA INDOTTA DA FUNGICIDI IN FORME LARVALI DI ZEBRAFISH

Annamaria Iannetta (1), William Gentile (1), Carmine Merola (1), Giovanni Angelozzi (1), Michele Amorena (1), Sabrina Tait (2), Gabriele Lori (2), Monia Perugini (1)

(1) *Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi, Teramo*

(2) *Centro di Riferimento Medicina di Genere Medicine, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Il Folpet (FOL), il Penconazolo (PCA) e il Metrafenone (MTF) sono tre fungicidi che, presentando meccanismi d'azione differenti, vengono utilizzati sia singolarmente, che in miscele, per difendere i raccolti da patogeni fungini. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare gli end point tossicologici, le alterazioni sub letali ed i meccanismi di regolazione genica indotti da questi fungicidi. In una prima fase dello studio sono stati eseguiti i Fish Embryo Acute Toxicity tests (FET tests) con embrioni di zebrafish. Successivamente in base ai dati ottenuti tramite i FET tests sono state selezionate tre diverse concentrazioni per ogni sostanza e sono state condotte le indagini molecolari sui seguenti geni: BAXA, BCL2A, BDNF, CASP3A, FOSAB, TP53, OGG1. Tramite i FET tests è stato possibile calcolare la concentrazione letale 50 (CL₅₀) rispettivamente pari a: 1,041 mg/L per il FOL, 5,001 mg/L per il PCA e 4,960 mg/L per il MTF e sono state evidenziate le seguenti alterazioni sub letali:

- FOL: stasi ematica, rallentamento del flusso sanguineo, edema del pericardio e testa di dimensioni ridotte;
- PCA: rallentamento del flusso sanguineo, edema del sacco vitellino, stasi ematica e ritardo nella schiusa;
- MTF: edema del pericardio, rallentamento del flusso sanguineo, alterazioni della frequenza cardiaca, edema del sacco vitellino, deformazioni del sacco vitellino, testa di dimensioni ridotte e coda deformata.

I risultati delle indagini molecolari hanno confermato la potenziale tossicità indotta dai tre fungicidi in zebrafish. Il MTF e il PCA mostrano modelli di induzione simili rispetto al FOL: nello specifico il MTF ed il PCA determinano una promozione dell'espressione di BAXA, BCL2A, CASP3A, TP53 e OGG1, mentre il FOL determina una globale diminuzione di BAXA, BCL2A, CASP3A e BDNF.

CHLORPYRIFOS AFFECTS IMMORTALIZED HYPOTHALAMIC MURINE GNRH NEURONS INTEGRITY AND EXPRESSION AT HUMAN RELEVANT EXPOSURE LEVELS

Gabriele Lori (1), Maria Luisa Casella (2), Antonella Tinari (1), Sabrina Tait (1)
(1) *Center for Gender-Specific Medicine, Istituto Superiore di Sanità, Rome*
(2) *Core Facilities, Istituto Superiore di Sanità, Rome*

Chlorpyrifos (CPF) is a widely used pesticide exerting several neurodevelopmental effects with severe consequences on children cognitive, behavioral and motor development. Human exposure occurs mainly through diet; pregnant women and children are subpopulations at higher risk. In brain, hypothalamus is one of the main target organ affected by pre- and postnatal CPF exposure. We previously demonstrated that developmental exposure to CPF alters oxytocin, vasopressin and Estrogen Receptor (ER) beta expression in mice. To better elucidate the mode of action of CPF in hypothalamus, at molecular level, we used the fully differentiated GT1-7 mouse hypothalamic cell line, analyzing a battery of endpoints at human relevant concentrations. GT1-7 cells were treated for 72h with CPF in a range of six 10-fold diluted concentrations (1 nM-100 μ M) assessing cell proliferation, metabolic activity, apoptosis and necrosis. Cells treated at the three lowest CPF doses (1-10-100 nM) were used to assess Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) secretion by ELISA assay, gene expression of GnRH, ER α , ER β , Androgen Receptor (AR), aromatase, oxytocin and oxytocin receptor by qPCR; in addition, we assessed protein expression profiles by Mass Spectrometry of all samples. Electronic Microscopy (TEM) was performed on GT1-7 treated with 100 nM CPF. CPF dose-dependently reduced metabolic activity and decreased cell proliferation only at the highest dose. At same dose, apoptosis was observed after 48h and 72h treatment. Both GnRH secretion and gene expression were repressed by CPF at 100 nM concentration. The selected genes were all up-regulated by CPF, with different patterns according to the concentration. TEM analysis evidenced severe mitochondrial damage, mitophagy, increased mielino-like figures and reduced cell-cell contact. By proteomic analysis we observed a higher number of differentially expressed proteins at the intermediate concentration; most significantly affected KEGG pathways were related to autophagy, immune-mediated diseases and dopamine signaling. Exposure of hypothalamic GT1-7 cells to CPF, at human relevant concentrations, demonstrated to impair mitochondria integrity also inducing neuroendocrine markers' expression and affecting relevant pathways possibly involved in neurological disorders. Such evidence further supports the concern for neurodevelopmental effects exerted by this pesticide.

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DEL FUNGICIDA QUINOXYFEN IN FORME LARVALI DI ZEBRAFISH

Francesca Mazza (1), Annamaria Iannetta (1), William Gentile (1), Giovanni Angelozzi (1), Michele Amorena (1), Giulia Caioni (2), Silvana Zugaro (2), Monia Perugini (1), Elisabetta Benedetti (2)

(1) *Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi, Teramo*

(2) *Dipartimento di Medicina Clinica Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi, L'Aquila*

Il Quinoxifen (QXY) è un fungicida con attività specifica contro lo oidio e poiché il suo meccanismo d'azione è diverso rispetto a quello di altri fungicidi potrebbe essere utilizzato in nuove strategie in caso di resistenza ai fungicidi tradizionali. Il suo utilizzo soprattutto in viticoltura e la mancanza in letteratura di dati in merito alla tossicità sono i principali motivi per cui tale studio si impronta sulla valutazione degli effetti tossicologici di tale sostanza tramite l'utilizzo del modello zebrafish (*Danio rerio*). Tramite i Fish Embryo Acute Toxicity (FET) tests sono state testate le seguenti concentrazioni 2 e 4 mg/L e al termine dei test sono state condotte le indagini molecolari per i seguenti geni: *shank3a*, *gad1b*, *neurexin 1a* e *cyp19a1b*. Alle concentrazioni testate non è stato possibile determinare valori di DL₁₀, DL₂₀ e DL₅₀ ma sono state evidenziate le seguenti alterazioni sub letali: edema del pericardio, stasi ematica, rallentamento del flusso sanguigno, deformazione del sacco vitellino, testa di dimensioni più piccole e movimenti accelerati della bocca. I dati ottenuti dall'indagine molecolare mostrano come il QXY promuova l'espressione di *shank3a*, *gad1b* e *neurexin 1a*, ovvero dei geni implicati nella sinaptogenesi, e al contempo determini una diminuzione dell'espressione di *cyp19a1b*, gene codificante per l'aromatasi e specifico della glia radiale. I risultati fanno ipotizzare una disregolazione nel processo di formazione delle sinapsi, e in particolare del circuito glutammatergico, unitamente ad una non corretta maturazione dei neuroni serotoninergici.

MONITORAGGIO BIOLOGICO DELL'ESPOSIZIONE A FTALATI IN BAMBINI IN ETÀ SCOLARE E LORO GENITORI

Enrico Paci, Rossana Claudia Bonanni, Giovanna Tranfo
INAIL, DiMEiLA, Monteporzio Catone, Roma

Gli ftalati, diesteri dell'acido ftalico, sostanze di sintesi ampiamente usate nei prodotti commerciali, soprattutto nelle plastiche, ma anche nei cosmetici e nei prodotti farmaceutici, classificati come interferenti endocrini, sono stati anche associati a stress ossidativo, disordini cognitivi ed obesità; per queste ragioni l'utilizzo degli ftalati contenuti in giocattoli ed altri prodotti destinati ai bambini minori di tre anni, è stato inizialmente regolamentato nell'Unione Europea, in accordo con la Direttiva 79/769/EEC per quanto riguarda alcuni di essi (di-etil-esil ftalato (DEHP), di-n-butil ftalato (DBP), benzil-butil ftalato (BBP), di-isobutil ftalato (DiBP), di-isopentil ftalato (DIPP), n-pentil-isopentil ftalato (nPIP), bis (2-metossietil) ftalato (BMEP) e di-esil ftalato DHP). Trattandosi di inquinanti ubiquitari, le fonti di esposizione non si limitano ai prodotti commerciali già citati, ma anche al cibo, all'acqua, all'aria. I bambini in età scolare (3-15 anni) sono particolarmente suscettibili a tali xenobiotici, essendo nella fase dello sviluppo sessuale e cognitivo. Il presente studio, effettuato nel 2013 e, quindi, precedente ai recenti cambiamenti normativi che hanno posto in regime di autorizzazione DEHP, BBP, DBP e DiBP nel 2015, DIPP, BMEP e nPIP nel 2020, ha determinato i livelli urinari di 5 metaboliti di ftalati (Mono-etil ftalato (MEP), Mono-etil-esil ftalato (MEHP) e Mono-etil-5-idrossiesil ftalato (MEHHP) per il DEHP, Mono-n-butil ftalato (MnBP) per il DnBP e per il BBzP, Mono-benzil ftalato (MBzP) per il DBzP e per il DBP, in un gruppo di 20 bambini, a confronto con i livelli trovati nelle urine dei loro genitori, allo scopo di evidenziare le eventuali differenze sia nei percorsi metabolici, sia nelle fonti di esposizione. Sono state determinate sia la frazione libera che quella coniugata: infatti i metaboliti degli ftalati sono escreti nelle urine coniugati con acido glucuronico, ed è necessaria quindi una idrolisi enzimatica prima dell'analisi, in modo da determinare la frazione totale, mentre la frazione libera si ottiene senza idrolisi. L'analisi quantitativa è stata effettuata mediante HPLC/MS/MS con diluizione isotopica. I risultati mostrano più alti livelli di MEP nei bambini che nei loro genitori, ed una maggiore frazione di MEHP libera, indicando quindi una minore velocità di coniugazione con l'acido glucuronico e, quindi, una più lunga emivita ed una maggiore suscettibilità agli effetti del DEHP, uno degli ftalati ancora utilizzato nel 2013, ma entrato in regime di autorizzazione REACH nel 2015. Tali risultati sottolineano l'importanza della valutazione dell'esposizione agli ftalati nell'ambiente scolastico e rimarcano anche la necessità di limitare l'uso di sostanze interferenti endocrine nei prodotti per bambini e adolescenti.

WIDESPREAD PESTICIDES ACT ON ESTROGEN RECEPTORS

Marta Gea (1), Sabrina Costa (2), Gianfranco Gilardi (2), Giovanna Di Nardo (2), Tiziana Schilirò (1)

(1) *Department of Public Health and Pediatrics, University, Turin*

(2) *Department of Life Science and Systems Biology, University, Turin*

Pesticides are essential to agricultural yield and useful to fight vector-borne and food-borne diseases. However, their extensive application has ensured environmental spread, endangering human and global health. Among the different biological effects that can be induced by pesticides, recently a great deal of attention has been paid to the ability of pesticides to alter the function of the endocrine system. Some pesticides have already been proven to be endocrine disruptors, while additional evidence is needed for many others. Moreover, once in the environment, pesticides can be transformed in metabolites whose toxicity is generally less investigated. The aim of this study was to assess the interference with oestrogen signalling of eight pesticides or pesticide metabolites that are frequently detected in Italian surface and ground waters (concentration often above drinking water limit value, 0.1 µg/L). Three herbicide metabolites (AMPA, 2,6-dichlorobenzamide, terbuthylazin-desethyl), four herbicides (quinclorac, metolachlor, imazamox, nicosulfuron) and a fungicide (azoxystrobin) were tested. The effect of pesticides on oestrogen signalling was assessed using a gene reporter assay on MELN cells, which measures the oestrogenic activity mediated by oestrogen receptors (both agonistic and antagonistic activity). Moreover, the interference of pesticides with oestrogen receptors was also assessed through molecular docking analysis on alpha oestrogen receptors. The results showed that some pesticides were able to alter the function of the endocrine system acting on oestrogen receptors: no pesticide induced an antagonistic activity, while quinclorac and terbuthylazin-desethyl induced an agonistic activity on oestrogen receptors so they should be considered as endocrine disruptors. The molecular docking analysis confirmed the result; indeed, it showed that the two pesticides are theoretically able to bind the alpha oestrogen receptors in the oestradiol binding site. In conclusion, this study confirmed that some widespread pesticides are able to alter the function of the endocrine system, suggesting that they should be replaced with other pesticides characterized by the same useful properties, but without endocrine activities. It is also important to highlight that pesticides can occur in the environment and on fruits and vegetables we eat as a cocktail of chemicals that may have synergistic, additive, or antagonistic effects on each other, therefore, more studies are needed to investigate possible effects of different pesticides that can be contemporarily found in the environment or on foods as residuals. The obtained data could be useful to design and develop a global pesticide legislation that will protect both humans and the environment.

EFFETTI METABOLICI SESSO-SPECIFICI INDOTTI DALLA SOMMINISTRAZIONE DI BISFENOLO A, A LIVELLI DI DOSE DESUNTI DALL'ESPOSIZIONE DEI BAMBINI A RATTI IN FASE PERIPUBERALE: DATI PRELIMINARI

Alessia Tammaro (1,2), Sabrina Tait (1), Cinzia La Rocca (1), Francesca Maranghi (1), Roberta Tassinari (1)

(1) *Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(2) *Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma*

Il Bisfenolo A (BPA) è un Interferente Endocrino (IE) ampiamente diffuso nell'ambiente e negli alimenti, i cui effetti sono rilevanti per la salute dei bambini. L'esposizione durante la prima infanzia ad IE rappresenta un fattore di rischio e recenti dati indicano che può contribuire all'aumento dell'incidenza di disturbi metabolici. Scopo di questo studio è valutare gli effetti sesso specifici sul sistema metabolico dell'esposizione a BPA durante la fase peri-puberale a livelli di dose comparabili con l'esposizione dei bambini.

Metodi: ratti maschi (M) e ratti femmine (F) sono stati trattati per via orale (gavaggio) a partire dal giorno post-natale 23 - giorno dello svezzamento nel ratto - fino a maturità sessuale, per 28 giorni, 5 volte alla settimana, con tre livelli di dose di BPA: 2, 6 e 18 mg/kg di peso corporeo (pc) die. Ad un gruppo di controllo è stato somministrato solo il veicolo (olio di oliva). I livelli di dose sono stati ricavati a partire dalle concentrazioni di BPA misurate nello studio di biomonitoraggio della popolazione infantile italiana del progetto PERSUADED. Durante il trattamento sono state valutate le condizioni di salute, il pc e il consumo di mangime degli animali. Al momento del sacrificio i ratti sono stati anestetizzati ed è stato prelevato il sangue per la misurazione dei livelli sierici dei seguenti ormoni: leptina, adiponectina, grelina, insulina e Low Density Lipoproteins (le analisi degli ultimi due sono in corso). È stato inoltre prelevato il tessuto adiposo per l'analisi della lipidomica (in corso).

Risultati M: Aumento significativo dell'incremento ponderale a 2 mg/kg pc. Aumento del consumo di mangime medio durante il trattamento, significativo alle settimane 1, 2 e 3 a 2 mg/kg pc, 1 e 4 a 6 mg/kg pc e alla settimana 4 per il gruppo BPA18. Riduzione dose dipendente del rapporto leptina/adiponectina significativo a 6 e 18 mg/kg pc.

Risultati F: Riduzione dose dipendente del rapporto leptina/adiponectina significativo a 18 mg/kg pc e riduzione dose dipendente della grelina significativo a 6 e 18 mg/kg pc.

Conclusioni: I risultati preliminari degli endpoint correlati al sistema metabolico dovuti all'esposizione peri-puberale in ratti al BPA, a livelli di dose coerenti con l'esposizione infantile, indicano possibili meccanismi di azione diversi a seconda del sesso e della dose.

INFLUENZA DI SESSO, ETÀ, AREA E MACROAREA DI RESIDENZA, ATTIVITA' FISICA SULLE ABITUDINI ALIMENTARI DI BAMBINI, BAMBINE E ADOLESCENTI ITALIANI DAL PROGETTO LIFE PERSUADED

Alice Catena (1), Annalisa Silenzi (2), Luca Busani (2), Roberta Masella (2), Sabrina Tait (2), Rosaria Vari (2), Fabrizia Carli (3), Amalia Gastaldelli (3), Stefano Cianfarani (4,5), Beatrice Scazzocchio (2), Cinzia La Rocca (2)

(1) Scuola di Specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi, Brescia

(2) Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(3) Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa

(4) Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma

(5) Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Il sovrappeso e l'obesità associati a malattie non trasmissibili sono le principali cause di mortalità in tutto il mondo. Le disfunzioni metaboliche si associano a scorrette abitudini alimentari, acquisite nella prima infanzia e influenzate dal sesso e genere. Lo scopo dello studio è di valutare le differenze tra ragazzi (M) e ragazze (F) di età compresa tra 4 e 14 anni nel consumo di frutta, verdura, cereali e derivati, bevande zuccherate e *junk food*. I partecipanti allo studio Life Persuaded (M/F 1:1; N=899), raggruppati in classi di età (4-6, 7-10 e 11-14 anni), macroaree (Nord, Centro e Sud Italia), aree (rurale o urbana) e attività sportiva, hanno compilato un diario alimentare di due giorni. L'analisi dei dati è stata eseguita mediante Stata® 13.1 con regressione logistica multipla e calcolo delle misure di associazione (*Odds Ratio* - OR), con significatività statistica è fissata a $\leq 0,05$. Solo il 14,7% dei soggetti ha un consumo adeguato di frutta e il 50,7% di verdura. Più dell'85% supera il valore soglia (10° percentile) per il consumo di *junk food* e il 39,2% di una bevanda zuccherata (> 200 ml) alla settimana. I gruppi F e 7-14 anni hanno un rischio inferiore ($OR_F = 0,74$; IC 95%: 0,63-0,85; $OR_{7-10} = 0,39$; IC 95%: 0,31-0,47 e $OR_{11-14} = 0,32$; IC 95%: 0,26-0,38) di consumo inadeguato di cereali e derivati rispetto ai gruppi M e 4-6 anni, rispettivamente. I gruppi 7-10 e 11-14 anni hanno: a) un rischio maggiore di consumo inadeguato di verdure ($OR_{7-10} = 1,56$; IC 95%: 1,30-1,83 e $OR_{11-14} = 1,92$; IC 95%: 1,60-2,25) e di frutta ($OR_{7-10} = 1,67$; IC 95%: 1,30-2,05 e $OR_{11-14} = 3,10$; IC 95%: 2,30-3,90) rispetto al gruppo 4-6 anni, b) un rischio ridotto ($OR_{7-10} = 0,51$; IC 95%: 0,43-0,60 e $OR_{11-14} = 0,64$; IC 95%: 0,53-0,74) di consumo inadeguato di bevande zuccherate rispetto al gruppo 4-6 anni. Il gruppo aree urbane ha un rischio inferiore di consumo inadeguato di frutta ($OR_U = 0,65$; IC 95%: 0,52-0,78) e di bevande zuccherate ($OR_U = 0,69$; IC 95%: 0,60-0,79) rispetto a quello aree rurali. I soggetti del Centro hanno un rischio maggiore di consumo inappropriato di *junk food* rispetto ai soggetti del Nord ($OR_C = 1,65$; IC 95%: 1,27-2,04).

Conclusioni: è presente un consumo inadeguato di frutta, verdura, bevande zuccherate e *junk food* in relazione all'età e all'area geografica, con differenze legate al sesso/genere osservate solo per cereali e derivati.

ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS IN BREASTMILK AND INFANT NEUROBEHAVIORAL DEVELOPMENT: PRELIMINARY RESULTS FROM THE PARMA COHORT OF THE LIFE-MILCH PROJECT

Maria Maddalena Brambilla (1), Silvia Paterlini (1), Chiara Scopa (1), Davide Ponzi (1), Chiara Petrolini (2), Tullio Ghi (1,2), Serafina Perrone (1,2), Francesco Pisani (1), Vassilios Fanos (3), Anna Maria Papini (4), Maria Elisabeth Street (1,2,5), Paola Palanza (1)

(1) Medicine and Surgery Department, University of Parma, Italy

(2) AOUPR, Mother and Infant Health Department, Parma, Italy

(3) Neonatal Intensive Care Unit, AOU and University of Cagliari, Cagliari, Italy

(4) Department of Chemistry ‘Ugo Schiff’, University of Florence, Florence, Italy, MoD&LS Laboratory and Interdepartmental Research Unit of Peptide and Protein Chemistry and Biology, Department of Chemistry ‘Ugo Schiff’, University of Florence, Sesto Fiorentino, Italy

(5) AUSL – IRCCS, Department of Obstetrics, Gynecology and Paediatrics, Reggio Emilia, Italy

Breastmilk is the most important nutrition source for infants, and it is potentially highly exposed to environmental pollutants. Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) are man-made chemicals present in everyday life environment that can disrupt the programming of endocrine signaling pathways during development, resulting in adverse effects. Maternal exposure to EDCs result in fetal and neonatal exposure via utero and breastmilk, respectively. The Life-MILCH Project is a longitudinal pilot study that aims to determine the association between levels of maternal milk contamination/exposure to EDCs and infant’s growth, development and neurobehavioral health in the first year of life in two geographical areas, Emilia Romagna and Sardinia, in order to develop a risk assessment model of EDCs exposure and health effects. Here, we present preliminary results from the Parma study cohort of 245 pregnant women enrolled at the Parma Hospital Center. At recruitment, two questionnaires about lifestyle and nutritional habits were administered and a sample of urine was collected for assessing EDCs exposure. At parturition, a cord sample was collected, infants’ parameters were recorded, and a urine sample was collected within 12hrs. Mother-infant dyads were recalled at 1, 3, 6, and 12 months of life. Postnatal EDCs exposure was assessed through questionnaires about maternal and infant lifestyle and nutritional habits and by biological sample (breastmilk, formula milk, maternal and infant urine). Infants’ growth parameters were recorded, and neurobehavioral development was assessed by different tests: Visual Preference Paradigm, Face-to-Face-Still-Face, Fagan Test, Barrier Task, and the Bayley III Scale. A preliminary analysis was carried out on a sub-sample of 22 mother-infant dyads for growth and neurobehavioral development at 6 and 12 months of age in relation to Bisphenol (BPs) and Parabens (PBs) concentration levels in maternal urine and breastmilk. Although data analysis and results are not completed yet, preliminary results show significant interaction effects between pre- and post-natal BPs and PBs concentration levels in

breastmilk and maternal urine, and the infant neurodevelopmental areas assessed. Finally, there were significant interaction between pre- and post-natal maternal and infant lifestyle and nutritional habits, cognitive and motor development. These preliminary data suggest the potential role of EDCs exposure on the infant neurobehavioral outcomes in the first years of life. Further analysis will allow to better understand the associations between lifestyle and nutritional habits, EDCs exposure via breastmilk and infant health, also comparing urban and rural areas in Italy.

INDICE DEGLI AUTORI

Aloi R.; 14
Amorena M.; 18; 19; 21
Angelozzi G.; 18; 19; 21
Benedetti E.; 21
Bonanni R.C.; 22
Brambilla M.M.; 26
Busani L.; 25
Caioni G.; 21
Carli F.; 25
Casella M.L.; 20
Catena C.; 25
Cianfarani S.; 25
Ciferri L.; 4
Coppola L.; 8
Corsini E.; 9
Costa S.; 23
del Gaudio M.; 17
Della Salda L.; 18
Deodati A.; 12
Di Nardo G.; 23
Fabbrizi E.; 5
Fanos V.; 11; 26
Gastaldelli A.; 25
Gatto M.P.; 17
Gea M.; 23
Gentile W.; 18; 19; 21
Ghi T.; 26
Gilardi G.; 23
Iannetta A.; 18; 19; 21
La Rocca C.; 3; 7; 24; 25
Lori G.; 19; 20
Maranghi F.; 24
Masella R.; 25
Massimini M.; 18
Mazza F.; 21
Merola C.; 19
Paci E.; 22
Palanza P.; 11; 26
Papini A.M.; 11; 26
Paterlini S.; 26
Perrone S.; 26
Perugini M.; 6; 18; 19; 21
Petrolini C.; 26
Piccolo C.; 17
Pisani F.; 26
Ponzi D.; 26
Reda N.; 13
Scazzocchio B.; 25
Schilirò T.; 23
Scopa C.; 26
Silenzi A.; 25
Street M.E.; 11; 26
Tait S.; 10; 19; 20; 24; 25
Tammaro A.; 24
Tassinari R.; 24
Tinari A.; 20
Tranfo G.; 22
Vari R.; 25
Zugaro S.; 21

Serie ISTISAN Congressi
gennaio-marzo 2023 (n. 1) 1° Suppl.

Stampato in proprio
Servizio Comunicazione Scientifica - Istituto Superiore di Sanità, Roma