



ISTISAN CONGRESSI 18 | C3

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

Workshop finale del Progetto

Biomonitoraggio di ftalati e BPA nei bambini italiani e associazione con patologie infantili: il progetto europeo LIFE PERSUADED

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 25-26 ottobre 2018

RIASSUNTI

A cura di R. Tassinari, L. Coppola e C. La Rocca



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Workshop finale del Progetto

**Biomonitoraggio di ftalati e BPA nei bambini italiani
e associazione con patologie infantili:
il progetto europeo LIFE PERSUADED**

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 25-26 ottobre 2018

RIASSUNTI

A cura di
Roberta Tassinari, Lucia Coppola, Cinzia La Rocca

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

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
18/C3

Istituto Superiore di Sanità

Biomonitoraggio di ftalati e BPA nei bambini italiani e associazione con patologie infantili: il progetto europeo LIFE PERSUADED. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 25-26 ottobre 2018. Riassunti.

A cura di Roberta Tassinari, Lucia Coppola e Cinzia La Rocca

2018, viii, 62 p. ISTISAN Congressi 18/C3

Ftalati e bisfenolo A sono sostanze plastificanti ubiquitarie e riconosciuti interferenti endocrini. Il progetto LIFE PERSUADED ha avuto come obiettivo principale la valutazione dei livelli di ftalati e Bisfenolo A nei bambini e adolescenti della popolazione italiana, attraverso uno studio di biomonitoraggio che ha coinvolto coppie madre-figlio reclutate al Nord, Centro e Sud Italia. LIFE PERSUADED si è proposto inoltre di indagare sulla possibile associazione tra esposizione a tali sostanze e patologie infantili sempre più diffuse, come le alterazioni dello sviluppo puberale e l'obesità. Attraverso studi sperimentali su un modello murino *ad hoc*, LIFE PERSUADED ha studiato gli effetti diretti di queste sostanze ed evidenziato marcatori precoci. Il Workshop ha lo scopo di presentare i risultati del progetto, con particolare riferimento alla problematica degli interferenti endocrini in relazione alla salute del bambino, evidenziandone le ricadute in ambito regolatorio, della valutazione e comunicazione del rischio.

Parole chiave: Ftalati, Bisfenolo A, Biomonitoraggio, Coppie madre-figlio, Sviluppo puberale, Obesità

Istituto Superiore di Sanità

Phthalates and Bisphenol A biomonitoring in Italian mother-child pairs: like between exposure and juvenile diseases. Istituto Superiore di Sanità. Rome, October 25-26, 2018. Abstract book.

Edited by Roberta Tassinari, Lucia Coppola and Cinzia La Rocca

2018, viii, 62 p. ISTISAN Congressi 18/C3 (in Italian and in English)

Phthalates and bisphenol A are ubiquitous plasticisers recognized as endocrine disruptors. The main objective of LIFE PERSUADED project has been the assessment of phthalates and bisphenol A levels in children and adolescents, by a biomonitoring study involving mother-child pairs from North, Central and South of Italy. LIFE PERSUADED has also investigated the association between exposure to these substances and children diseases, such as thelarche, precocious puberty and obesity. Experimental studies by using *ad hoc* mouse model have been performed to study the adverse effects and early biomarkers of these substances. The aim of the Workshop is to present the results of the project, with particular reference to the endocrine disruptors exposure and children health, the regulatory outcomes, the risk assessment and communication.

Keywords: Phthalates, Bisphenol A, Biomonitoring, Mother-child pairs, Precocious puberty, Obesity

Responsabili scientifici: Cinzia La Rocca

Per informazioni su questo documento scrivere a: roberta.tassinari@iss.it

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

Il progetto è stato finanziato dalla Commissione Europea LIFE+ Programme Environment Policy and Governance, (LIFE13 ENV/IT/000482); <https://lifp.iss.it/>

Citare questo documento come segue:

Tassinari R, Coppola L, La Rocca C (Ed.). *Biomonitoraggio di ftalati e BPA nei bambini italiani e associazione con patologie infantili: il progetto europeo LIFE PERSUADED. Roma, 25-26 ottobre 2018. Riassunti. Roma: Istituto Superiore di Sanità, 2018 (ISTISAN Congressi 18/C3).*

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Gualtiero Ricciardi*

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, Katia Colombo 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
Presentazione del Progetto LIFE PERSUADED	vii
Prima sessione - Presentazione risultati e attività	
Studio di biomonitoraggio	1
Studi caso-controllo: associazione tra esposizione a BPA e ftalati e patologie pediatriche	7
Studio sul modello animale	11
Seconda sessione - LIFE PERSUADED oltre la valutazione dell'esposizione e degli effetti	
Dai dati di progetto al coinvolgimento nella rete di laboratori per le analisi chimiche	15
Dati di progetto ai messaggi di salute: il contributo dei pediatri	19
Il progetto al servizio della diffusione della ricerca scientifica	25
Terza sessione - Aspetti regolatori e di salute	29
Sessione Poster	35
Indice degli autori	61

PROGRAMMA

Giovedì 25 ottobre 2018

- 8.30 Registrazione partecipanti
- 9.00 Saluto di benvenuto
Walter Ricciardi
Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità
- 9.15 Progetto *LIFE PERSUADED*
Cinzia La Rocca
Coordinatore del Progetto LIFE PERSUADED

Prima sessione - PRESENTAZIONE RISULTATI E ATTIVITÀ

STUDIO DI BIOMONITORAGGIO

Moderatori: **Cinzia La Rocca, Roberta Masella**

- 9.45 *Risultati dello studio di biomonitoraggio di BPA e ftalati nei bambini in Italia*
Sabrina Tait
- 10.15 *Risultati dello studio di biomonitoraggio di BPA e ftalati nelle donne in Italia*
Veronica Della Latta, Amalia Gastaldelli
- 10.45 *Stili di vita e determinanti di esposizione a BPA e ftalati in Italia*
Luca Busani
- 11.15 Discussione e conclusioni
- 11.30 Coffee break
Sessione poster

STUDI CASO-CONTROLLO: ASSOCIAZIONE TRA ESPOSIZIONE A BPA E FTALATI E PATOLOGIE PEDIATRICHE

Moderatori: **Carla Bizzarri, Giuseppe Sciré, Gian Luigi Spadoni**

- 12.00 *Results from case-control study on thelarche and precocious puberty and BPA and phthalates exposure*
Annalisa Deodati

12.30 *Results from case-control study on children obesity and BPA and phthalates exposure*
Giorgia Bottaro

13.00 Discussione e conclusioni

13.15 Lunch
Sessione poster

STUDIO SUL MODELLO ANIMALE

Moderatori: Gemma Calamandrei, Mauro Valeri

14.30 *Risultati dello studio juvenile: effetti di BPA e Ftalati a dosi compatibili con esposizione umana*
Roberta Tassinari

15.00 *Risultati dello studio juvenile: effetti delle miscele di BPA e ftalati*
Francesca Maranghi

15.30 Discussione e conclusioni

15.40 Coffe break
Sessione poster

Seconda sessione - LIFE PERSUADED OLTRE LA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE E DEGLI EFFETTI

DAI DATI DI PROGETTO AL COINVOLGIMENTO NELLA RETE DI LABORATORI PER LE ANALISI CHIMICHE

Moderatori: Francesca Maranghi, Sabrina Tait

16.00 *Metodologia analitica e partecipazione a ring test in HBM4EU*
Fabrizia Carli, Amalia Gastaldelli

DATI DI PROGETTO AI MESSAGGI DI SALUTE: IL CONTRIBUTO DEI PEDIATRI

Moderatori: Francesca Maranghi, Sabrina Tait

16.30 *Network dei pediatri: attività nell'ambito di PERSUADED, attività post-progetto e prospettive future*
Enrica Fabbrizi, Giacomo Toffol

IL PROGETTO AL SERVIZIO DELLA DIFFUSIONE DELLA RICERCA SCIENTIFICA

Moderatori: Francesca Maranghi, Sabrina Tait

17.00 *LIFE PERSUADED: nelle iniziative scientifiche tra ricercatori e cittadini*
Laura Narciso

17.20 Discussione

17.30 Chiusura della giornata

Venerdì 26 ottobre 2018

Terza sessione

ASPETTI REGOLATORI E DI SALUTE

Moderatori: Luca Busani, Gabriele Aquilina

9.20 *La politica europea sugli interferenti endocrini*
Valentina Bertato

9.50 *I dati di LIFE PERSUADED e loro rilevanza in ambito regolatorio*
Carlo Zaghi

10.20 *Exposure and pediatric disease*
Stefano Cianfarani

10.50 Discussione e conclusioni

11.00 Coffe break
Sessione poster

11.30 **Tavola Rotonda**
*La rete di progetti LIFE: KTE LIFE EnvHealth Network- Knowledge Transfer and
Exchange in Environment and Health risk governance*
Moderatore: Daniela De Vecchis

GIOCONDA: Liliana Cori

MAPEC_LIFE: Annalaura Carducci, Gabriele Donzelli

AI5-LIFE: Francesca Natali, Sandra Baldacci

MED-HISS: Giovanna Berti, Maria Rowinski

HIA21: Nunzia Linzalone

GHOST: Nicoletta Nesto

CROME: Gemma Calamandrei

MERMAIDS: Emilia Di Pace

LIFE PERSUADED: Cinzia La Rocca

- 13.00 *La comunicazione al cittadino: il portale ISSalute*
Walter Malorni
- 13.20 Lunch
Sessione poster
- 14:30 **Tavola Rotonda**
Azioni da intraprendere per la riduzione dell'esposizione
Moderatore: Gerolama Maria Ciancio
- Ministero dell'Ambiente: **Carlo Zaghi**
Assobioplastiche: **Carmine Pagnozzi**
SIEDP: **Enrica Fabbrizi**
LIFE PERSUADED: **Cinzia La Rocca, Luca Busani**
Legambiente: **Stefano Ciafani**
IPCF-CNR: **Simona Bronco**
- 16.30 Chiusura dei lavori

PRESENTAZIONE DEL PROGETTO LIFE PERSUADED

Cinzia La Rocca

Coordinatore del Progetto LIFE PERSUADED, Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il progetto LIFE PERSUADED (*Phthalates and bisphenol A biomonitoring in Italian mother-child pairs: link between exposure and juvenile diseases*, <https://lifp.iss.it/>) finanziato nell'ambito del programma LIFE+ Environment Policy and Governance, ha affrontato nei 4 anni di lavoro la problematica connessa all'esposizione della popolazione a sostanze di ampio utilizzo nella plastica e al trasferimento della conoscenza agli stakeholders coinvolti. Ftalati (DEHP) e Bisfenolo A (BPA) sono composti utilizzati come plasticizzanti in numerosi prodotti di uso quotidiano (contenitori per alimenti, giocattoli, cosmetici, carta termica, etc); sono sostanze non persistenti ma molto diffusi nell'ambiente e nell'organismo sono rapidamente metabolizzati. Sono riconosciuti interferenti endocrini e obesogeni con effetti sul sistema riproduttivo, sul neurosviluppo, sul sistema immunitario e sul metabolismo lipidico e degli ormoni tiroidei attraverso principalmente l'interazione con i recettori steroidei, tiroidei e dei perossisomi. Il principale obiettivo di LIFE PERSUADED è stato quello di valutare i livelli di esposizione a DEHP e BPA nei bambini e negli adolescenti in Italia attraverso lo studio di biomonitoraggio, in quanto l'infanzia e la pubertà rappresentano fasi dello sviluppo cruciali e suscettibili agli effetti degli interferenti endocrini. Sono state arruolate 2023 coppie madre-bambino (di età compresa tra i 4 e i 14 anni) ripartite in modo tale da poter tener conto dell'età, del sesso e dell'area abitativa (urbana e rurale) del Nord, Centro e Sud d'Italia. Il progetto ha anche affrontato due aspetti molto rilevanti riguardanti le ricadute dell'esposizione sulla salute: a) l'associazione con alcune patologie infantili di origine endocrina quali telarca prematuro, pubertà precoce centrale e obesità infantile, di origine idiopatica, e la valutazione di biomarcatori, attraverso gli studi caso-controllo; b) la valutazione degli effetti dell'esposizione a DEHP e BPA, singoli e in miscela, mediante uno studio tossicologico *in vivo* che utilizza un modello animale in fase juvenile, innovativo per lo studio delle patologie infantili, trattato con dosi derivanti dai livelli misurati nei bambini; tale approccio rende i risultati maggiormente comparabili e trasferibili alla popolazione infantile. Attraverso i questionari riguardanti lo stile di vita e le abitudini alimentari compilati dai soggetti reclutati, il progetto ha cercato di evidenziare alcune indicazioni utili per la riduzione dell'esposizione, tema rilevante ai fini della prevenzione. L'attuazione del progetto ha comportato molteplici attività di comunicazione, con strumenti sviluppati *ad hoc*, quali il sito web, la presenza nei social media, la produzione periodica di newsletter nonché la pubblicazioni scientifiche e partecipazione a conferenze sui temi del progetto. Uno degli interlocutori di progetto più importanti sono stati i pediatri del Sistema Sanitario Nazionale per l'arruolamento dei bambini, cui sono state trasferite informazioni sulla problematica e strumenti per le attività previste, durante incontri di training. A loro volta i pediatri hanno contribuito a diffondere la conoscenza della tematica presso la popolazione per promuovere la partecipazione al progetto. Il risultato della diretta e capillare comunicazione risiede nell'istituzione di una rete di 90 pediatri, nel raggiungimento della numerosità dei soggetti necessaria per lo

studio, nell'aumento di conoscenza e interesse in ambito ambiente e salute da parte degli specialisti e della popolazione. Inoltre dal 2016 al 2018, le attività del progetto sono state inserite nelle iniziative promosse in ISS rivolte ai cittadini, quale "La Notte Europea dei Ricercatori" e agli studenti partecipanti al progetto di "Alternanza scuola-lavoro" in collaborazione con le scuole di secondo grado di Roma. La strategia di trasferimento delle conoscenze e scambio di informazioni messa in atto dal progetto rappresenta il contributo di LIFE PERSUADED alla rete di KTE LIFE EnvHealth - Knowledge Transfer and Exchange in Environment and Health cui hanno aderito 8 progetti LIFE coinvolti nella tematica ambiente e salute. Numerose agenzie regolatorie e di riferimento (ECHA, EFSA, OECD) sono state informate delle attività di progetto, in particolare la costante collaborazione con il Ministero dell'Ambiente ha fornito e continuerà a fornire un contributo per la valorizzazione dei risultati, nell'ambito delle attività "After LIFE". I risultati di LIFE PERSUADED saranno condivisi nell'ambito del progetto europeo di biomonitoraggio HBM4EU (<https://www.hbm4eu.eu>) per l'implementazione del database disponibile per le agenzie per fini regolatori e di valutazione del rischio. Infine dalle attività di progetto sono già scaturite iniziative e studi, quali l'istituzione della biobanca di campioni di urina e di tessuti animali, la valutazione degli effetti sul metabolismo lipidico, le proposte di nuove progettualità, che rappresentano la ricaduta e la continuità scientifica dell'intero studio in una prospettiva futura.

Prima sessione

Presentazione risultati e attività

Studio di biomonitoraggio

Moderatori

Cinzia La Rocca, Roberta Masella

RISULTATI DELLO STUDIO DI BIOMONITORAGGIO DI BPA E FTALATI NEI BAMBINI IN ITALIA

Sabrina Tait

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

Gli ftalati ed il Bisfenolo A (BPA) sono composti chimici plasticizzanti ampiamente impiegati nell'imballaggio e nell'impacchettamento degli alimenti e dei liquidi. Non essendo legati chimicamente al polimero in cui sono contenuti, possono essere rilasciati negli alimenti o nei liquidi con cui sono a contatto.

La popolazione è esposta a queste sostanze mediante ingestione dei cibi, con possibili effetti avversi per la salute a livello del sistema riproduttivo, nervoso, endocrino, ecc. I bambini rappresentano una fascia di popolazione particolarmente vulnerabile all'esposizione per via del loro maggior apporto di cibo in relazione al peso corporeo e al diverso metabolismo.

Uno degli scopi del progetto LIFE PERSUADED era di determinare i livelli di esposizione a BPA e ftalati nella popolazione italiana infantile. A tal fine sono stati reclutati 900 bambini sani dai 4 ai 14 anni, equamente distribuiti fra maschi e femmine, residenti nelle macroaree Nord, Centro e Sud e, all'interno di queste, in aree urbane o rurali. Ogni bambino/a ha fornito un campione di urine per l'analisi dei livelli dei metaboliti del di-etil-esil-ftalato, DEHP (MEHP, MEOHP, MEHHP) e del BPA mediante cromatografia liquida ad alta risoluzione o gascromatografia, rispettivamente, accoppiate a spettrometria di massa. Ad ogni bambino è stato somministrato anche un questionario sullo stile di vita e sui pasti consumati i due giorni precedenti il prelievo di urine.

Livelli misurabili di ftalati sono stati riscontrati in tutti i bambini analizzati.

La somma dei metaboliti del DEHP è risultata significativamente diversa nelle tre macroaree, nell'ordine Nord<Centro<Sud con valori di mediane, rispettivamente, di 40,94 µg/g creatinina (IQ 27,53-62,80), 44,79 µg/g creatinina (IQ 30,38-69), 46,46 µg/g creatinina (IQ 31,14-66,07). Non si sono osservate differenze fra aree urbane e rurali. I livelli degli ftalati sono risultati più alti nella fascia di età più piccola, 4-6 anni, decrescendo nelle fasce di età più alte.

Livelli misurabili di BPA sono stati riscontrati nel 76% dei bambini analizzati. L'esposizione a BPA è risultata più alta al Sud (mediana 6,92, IQ 3,68-12,59) rispetto al Nord (mediana 5,72, IQ 3,22-11,97) e nelle aree urbane rispetto alle rurali. Anche per il BPA sono stati osservati livelli più alti nei bambini di 4-6 anni rispetto alle altre fasce di età.

I risultati dimostrano come, sebbene ftalati e BPA non siano composti persistenti, l'esposizione è diffusa e continua, ed è più rilevante per i bambini più piccoli. Considerando le conseguenze di salute possibili legate ad esposizioni precoci a queste sostanze, una loro riduzione potrebbe avere un impatto positivo per la salute.

RISULTATI DELLO STUDIO DI BIOMONITORAGGIO DI BPA E FTALATI NELLE DONNE IN ITALIA

Veronica Della Latta, Amalia Gastaldelli
Istituto Fisiologia Clinica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa

Nell'ambito del Progetto Europeo LIFE PERSUADED abbiamo reclutato 2.036 coppie madre-bambino residenti in diverse aree (Nord, Centro e Sud, area urbana o rurale) a cui abbiamo sottoposto dei questionari sullo stile di vita; su un sottogruppo il laboratorio dell'Istituto di fisiologia clinica del CNR di Pisa ha misurato le concentrazioni urinarie dei metaboliti del DEHP e del Bisfenolo A (BPA), due plasticizzanti che agiscono come interferenti endocrini.

Per le madri sono stati analizzati 898 campioni, che corrispondono a 300 madri del Nord, 299 del Centro e 299 del Sud. Il metodo per l'analisi dei metaboliti del DEHP si basa sull'analisi in cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa, utilizzando il sistema UHPLC-QTOF, mentre per il BPA sono state effettuate in Gas Cromatografia Spettrometria di Massa (GCMS). Tutti i valori sono stati normalizzati per la concentrazione urinaria di creatinina.

Per quanto riguarda la quantità totale dei metaboliti degli ftalati abbiamo trovato che quasi tutti i campioni rivelavano un'esposizione (99,3% >LOD) e non era diversa tra chi abitava in una zona rurale rispetto alle zone urbane. Tuttavia questa era significativamente più alta nelle madri che vivono nel Sud Italia (mediana 32,58 µg/g creatinina, *range* IQ 21,90-48,62) rispetto alle donne che vivono al Nord (mediana 27,49 µg/g creatinina, *range* IQ 19,59-42,73 µg/g creatinina) e al Centro (mediana 27,12 µg/g creatinina, *range* IQ 17,40-42,11). Per il BPA, il 77,3% dei campioni era >LOD. Rispetto agli ftalati, la concentrazione di BPA urinaria era significativamente più alta al Nord (mediana 6,07 µg/g creatinina, *range* IQ 3,37-14,92) rispetto al Centro (mediana 4,73 µg/g creatinina, *range* IQ 2,88-8,26) e al Sud (mediana 4,56 µg/g creatinina, *range* IQ 2,20-7,72); l'esposizione era inoltre più alta nelle zone urbane rispetto a quelle rurali (media 11,32 vs 9,63 µg/g creatinina).

In conclusione lo studio LIFE PERSUADED ha evidenziato che la popolazione italiana è esposta sia a ftalati che BPA e che l'esposizione è diversa a seconda del luogo di abitazione (Nord, Centro o Sud, zona rurale o urbana).

STILI DI VITA E DETERMINANTI DI ESPOSIZIONE A BPA E FTALATI IN ITALIA

Luca Busani

Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il Progetto LIFE PERSUADED ha avuto come obiettivo principale la determinazione dei livelli di ftalati, in particolare i metaboliti del Di-etil-esil-ftalato (DEHP), e del bisfenolo A in coppie madri/bambino del territorio nazionale italiano. L'associazione tra esposizione e stile di vita è stata valutata in 900 coppie, equamente distribuite fra Nord, Centro e Sud Italia, fra aree rurali ed urbane, in relazione al sesso del bambino (maschio e femmina) e all'età, suddivisa in tre fasce (4-6, 7-10 e 11-14 anni). Ogni volontario ha fornito un campione di urine per le analisi dei livelli dei contaminanti ed ha riempito un questionario rispondendo a domande sullo stile di vita, le abitudini alimentari e compilando il diario alimentare dei due giorni precedenti la raccolta delle urine. L'analisi dei questionari e dei diari alimentari ha permesso di identificare alcuni determinanti d'esposizione nei bambini e nelle madri. In particolare, livelli più alti della somma dei metaboliti di ftalati si sono osservati in bambini che giocano più di 4 ore al giorno con giocattoli di plastica, inclusi quelli elettronici. Tale associazione risulta più evidente nei bambini più piccoli di 4-6 anni. I bambini di età compresa tra i 7 e i 14 anni che svolgono attività fisica, hanno livelli più bassi di ftalati e BPA che variano a seconda dello sport praticato, del sesso e dell'area di residenza. Nelle madri, livelli più alti di BPA e ftalati si riscontrano in chi fa attività fisica all'aperto in area Urbana del Centro Italia.

Sia nei bambini sia nelle madri, livelli più alti di ftalati e BPA sono associati all'utilizzo di plastica monouso (bicchieri, piatti) che aumentano in relazione alla frequenza d'uso, e all'utilizzo di contenitori in plastica nel microonde.

Le evidenze raccolte confermano che alcuni stili di vita possono contribuire ad una maggiore esposizione a sostanze plasticizzanti. Attraverso la valutazione di tali evidenze, il progetto LIFE PERSUADED è in grado di fornire indicazioni alla popolazione generale su come modificare il proprio stile di vita al fine di ridurre il rischio di esposizione nell'età adulta e, cosa più importante, nell'età infantile/giovanile.

Prima sessione

Presentazione risultati e attività

**Studi caso-controllo: associazione tra esposizione
a BPA e ftalati e patologie pediatriche**

Moderatori

Carla Bizzarri, Giuseppe Sciré, Gian Luigi Spadoni

RESULTS FROM CASE-CONTROL STUDY ON THELARCHE AND PRECOCIOUS PUBERTY AND BPA AND PHTHALATES EXPOSURE

Annalisa Deodati

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Over the past several decades, the age of pubertal onset in girls has shifted downward worldwide. Exposure to Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) during critical windows of development may play a role in this trend. Epidemiological and animal studies showed that exposure to phthalates (DEHP) and Bisphenol A (BPA) could be associated with earlier puberty onset in girls.

To investigate the association between the exposure to BPA, DEHP's metabolites and alterations of puberty in girls, referred for Idiopathic Premature Thelarche (IPT) and Idiopathic Central Precocious Puberty (ICPP). A case control study was conducted in 97 girls, subdivided into 3 groups: 31 girls with ICPP (mean age 7.33 ± 0.79), 39 with IPT (mean age 6.61 ± 1.56) and 27 controls (mean age 6.49 ± 1.55).

Urine BPA and DEHP's metabolites were evaluated by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometer (LC-MS/MS). Clinical endpoints and biomarkers of effect were analysed in serum (AHM, KISS, Leptin). Exposure determinants were evaluated through an *ad hoc* questionnaires providing data on life styles, diet and other potential determinants of exposure.

The presence of measurable concentrations of the EDCs in all girls, even in the control group, was found. ICPP and IPT girls showed no significant difference in EDCs levels in comparison with controls. No significant difference in EDCs levels between ICPP and IPT girls was found. In ICPP and IPT groups, AMH levels were significantly lower compared to controls. Leptin levels were lower in ICPP girls compared to control girls. In IPT group, the sum of phtalates inversely correlated with AMH and KISS levels and positively correlated with the FSH peak suggesting that phthalates could potentially cause self-limited breast development without progression to true precocious puberty.

These data give insight into the potential role of phthalates in these pathologies. Though no significant difference in EDC concentrations were observed between the study groups and controls, the correlation between phtalates and some biomarkers warrant further prospective investigations to clarify the potential role of EDCs on timing of puberty in girls.

RESULTS FROM CASE-CONTROL STUDY ON CHILDREN OBESITY AND BPA AND PHTHALATES EXPOSURE

Giorgia Bottaro
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

The increasing incidence of obesity is a global public health challenge. Although energy imbalance is the major cause of obesity, evidence suggests that other risk factors such as exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals (EDCs) may contribute to the development of obesity. Early life exposure to obesogens may result in a higher risk of developing obesity. Among the chemicals suspected to have obesogenic effects, Bisphenol A (BPA) and phthalates are under worldwide investigation.

The aim of our study was to investigate the association between the exposure to BPA and phthalate metabolites in idiopathic obese (IO) girls.

A case-control study was conducted on 63 girls and 59 boys, subdivided into 4 groups: 36 girls with IO (mean age 8.63 ± 1.37), 30 boys with IO (8.70 ± 1.21), 27 controls girls (mean age 7.97 ± 1.49) and 29 control boys (7.80 ± 1.59). Urine BPA and phthalate metabolites were evaluated by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometer (LC-MS/MS). Clinical endpoints and biomarkers of effect were analysed in serum (Leptin, Adiponectin). Exposure determinants were evaluated through *ad hoc* questionnaires providing data on life styles, diet and other potential determinants of exposure.

Both BPA and phthalate metabolites were measurable in all tested samples, including those from control group. Obese girls showed significantly higher BPA urinary levels than controls: median BPA $11.82 \mu\text{g/g creatinine}$ (IQ range 3.80-23.15) vs $5.36 \mu\text{g/g creatinine}$ (IQ range 3.02-10.85), respectively.

No significant difference in phthalate metabolites were found. In the obese groups, no significant correlation between EDC levels and metabolic parameters were observed.

Leptin levels were significantly higher in both obese boys and girls compared to corresponding controls, whereas adiponectin levels were lower than controls only in obese boys. Our findings suggest a possible role of BPA in development of obesity in girls. Further experimental and clinical investigations are necessary to unveil the potential cause-effect relationship.

Prima sessione

Presentazione risultati e attività

Studio sul modello animale

Moderatori

Gemma Calamandrei, Mauro Valeri

RISULTATI DELLO STUDIO JUVENILE: EFFETTI DI BPA E FTALATI A DOSI COMPATIBILI CON ESPOSIZIONE UMANA

Roberta Tassinari

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

Caratterizzare i meccanismi d'azione, gli organi bersaglio e gli effetti avversi dovuti alla somministrazione di Bisfenolo A (BPA), Di-2-Etlesilftalato (DEHP) e 5 loro miscele a livelli di dose comparabili all'esposizione dei bambini durante la fase di sviluppo pre- e peri-puberale rappresenta l'obiettivo principale dell'action B6 del progetto LIFE PERSUADED. Ratti maschi e femmine sono stati trattati per via orale (gavaggio) a partire dal giorno post-natale (PND) 23 - giorno dello svezzamento nel ratto - fino a maturità sessuale, per 28 giorni, 5 volte alla settimana, con tre livelli di dose di BPA, tre di DEHP e cinque loro miscele. 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 e ftalati misurate nei primi 300 bambini reclutati nello studio di biomonitoraggio. In particolare, i livelli di dose del BPA sono stati ricavati calcolando l'esposizione giornaliera, secondo raccomandazione EFSA, che tiene conto sia del peso corporeo sia della quantità di creatinina escreta con le urine. Lo stesso calcolo è stato applicato al DEHP, considerando che il 99% di DEHP viene convertito in MEHP. I dosaggi sono: per il BPA 2, 6 e 18 mg/kg di peso corporeo (pc) al giorno per il DEHP 9, 21 e 48 mg/kg di pc al giorno. Durante il trattamento sono stati valutati i parametri di sviluppo sessuale (apertura della vagina e distacco del prepuzio). Al momento del sacrificio i ratti sono stati anestetizzati ed è stato prelevato il sangue per la misurazione dei livelli sierici dei seguenti ormoni: estadiolo, testosterone, ormoni tiroidei, leptina, kisleptina e anti-mulleriano. I seguenti organi; fegato, milza, pancreas, surreni, utero, ovaio, testicolo, epididimo, tiroide sono stati dedicati all'analisi istopatologica sia per la valutazione di eventuale danno tissutale che del grado di maturazione attraverso l'esame istomorfometrico. Gli ipotalami sono stati prelevati per l'analisi dell'espressione genica di un pannello di geni indicativi della funzionalità dell'asse ipotalamo-gonadi: LH, FSH, TSH. I principali risultati dovuti alla somministrazione orale di BPA e di DEHP non evidenziano segni di tossicità sistemica, condizione importante che permette lo studio corretto dei meccanismi di tossicità e degli effetti avversi per l'individuazione degli organi *target*, escludendo a priori che questi derivino da meccanismi di tossicità secondaria. Sia per il BPA sia per il DEHP si evidenzia un cambiamento del pannello ormonale che riguarda principalmente la riduzione dei livelli sierici di estradiolo e leptina nelle femmine e un aumento dei livelli di adiponectina nei maschi. Segni di tossicità epatica, al livello di dose più alto, sono presenti nelle femmine.

I dati ottenuti dallo studio juvenile, inserito nel progetto LIFE PERSUADED, rappresentano uno strumento adeguato per contribuire alla valutazione del rischio per determinare la vulnerabilità specifica della finestra di sviluppo postnatale compresa dallo svezzamento alla pubertà.

RISULTATI DELLO STUDIO JUVENILE: EFFETTI DELLE MISCELE DI BPA E FTALATI

Francesca Maranghi

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

Il progetto LIFE-PERSUADED misura i livelli di ftalati (il Dietilexilftalato [DEHP] ed il suo principale metabolita MEHP) e Bisfenolo A (BPA), sostanze plastificanti ubiquitarie e riconosciuti Interferenti Endocrini, e si propone di valutare la possibile relazione tra esposizione ed effetti sulla salute attraverso uno studio *in vivo* su modello animale in fase di sviluppo peri-puberale comparabile alla popolazione infantile dello studio di biomonitoraggio. Aspetto peculiare dello studio animale risiede anche nella caratterizzazione dei meccanismi d'azione, degli organi bersaglio e degli effetti avversi utilizzando miscele di BPA e DEHP che rappresenta la reale situazione di esposizione della popolazione. Ratti maschi e femmine sono trattati per via orale dal giorno post-natale (PND) 23 - giorno dello svezzamento nel ratto - fino a maturità sessuale, approssimativamente PND 60, 5 volte alla settimana, con 5 livelli di dose di miscele di BPA e DEHP: C = controllo, B2D9, B6D21, B18D9, B2D48, B18D48. Al 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 e ftalati misurate nei primi 300 bambini reclutati nello studio di biomonitoraggio. Durante il trattamento sono stati osservati i parametri di sviluppo sessuale (apertura della vagina e distacco del prepuzio). Al momento del sacrificio i ratti sono stati anestetizzati ed è stato prelevato il sangue per la misurazione dei livelli sierici dei seguenti ormoni: estadiolo, testosterone, ormoni tiroidei, leptina, kisleptina, adiponectina, e anti-mulleriano. I seguenti organi: fegato, milza, pancreas, surreni, utero, ovaio, testicolo, epididimo, tiroide sono stati dedicati all'analisi istopatologica sia per la valutazione di eventuale danno tissutale che del grado di maturazione attraverso l'esame istomorfometrico. Gli ipotalami sono stati prelevati per l'analisi dell'espressione genica di un pannello di geni indicativi della funzionalità dell'asse ipotalamo-gonadi. I principali risultati non evidenziano segni di tossicità generale e mortalità: aumento ponderale al sacrificio è presente nei maschi del gruppo B6D21, mentre diminuzione del consumo di cibo si osserva nelle femmine dei gruppi B2D9 e B18D9. Un ritardo nello sviluppo sessuale è evidenziabile nelle femmine del gruppo B18D48. I marcatori metabolici (leptina ed adiponectina) risultano alterati solo nelle femmine in maniera significativa alla massima dose di BPA (B18D9 e B18D48). Il fegato risulta essere più sensibile al danno tissutale diretto sia nei maschi che nelle femmine (B2D9, B6D21, B18D9, B18D48) seguito dalla milza; entrambe le sostanze sembrano pesare in maniera comparabile. Nei maschi si osserva una variazione significativa dei parametri morfologici del testicolo (B2D9 e B18D9). I dati ottenuti dallo studio delle miscele di contaminanti corrispondenti ai livelli misurati nella popolazione rappresentano uno strumento innovativo per contribuire alla valutazione del rischio, definendone meccanismi e bersagli e confermando specifiche vulnerabilità legate a sesso ed età.

Seconda sessione

**LIFE PERSUADED: oltre la valutazione
dell'esposizione e degli effetti**

**Dai dati di progetto al coinvolgimento
nella rete di laboratori per le analisi chimiche**

Moderatori

Francesca Maranghi, Sabrina Tait

METODOLOGIA ANALITICA E PARTECIPAZIONE A RING TEST IN HBM4EU

Fabrizia Carli, Amalia Gastaldelli
Istituto Fisiologia Clinica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa

Ai fini del progetto europeo LIFE PERSUADED il laboratorio dell'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR di Pisa, come *partner* di progetto, ha sviluppato un nuovo metodo analitico per l'analisi chimica in campioni di urina dei metaboliti del Dietilexilftalato (DEHP) e del Bisfenolo A (BPA), due interferenti endocrini ampiamente utilizzati come plasticizzanti. Il metodo per l'analisi dei metaboliti del DEHP si basa sull'analisi in cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa a tempo di volo, utilizzando il sistema UHPLC-QTOF, partendo da 0,5 ml di urina dopo deconiugazione enzimatica e purificazione con colonnine C18. Riguardo ai metaboliti del DEHP abbiamo ottenuto dei buoni risultati in termini di sensibilità e riproducibilità analitica. Le analisi del BPA le analisi invece erano affette da un marcato effetto matrice in cromatografia liquida. Per questa ragione abbiamo sviluppato un secondo metodo in Gas Cromatografia (GCMS) che ci ha permesso di analizzare il BPA partendo dallo stesso campione estratto per l'analisi dei metaboliti del DEHP.

Per valutare e migliorare la qualità delle nostre analisi abbiamo partecipato al test di interscambio di laboratori organizzato dal progetto europeo HBM4EU, finanziato nell'ambito di Horizon 2020, per il dosaggio di ftalati e bisfenoli in campioni urinari. Tra gli obiettivi chiave del progetto HBMEU4 infatti c'è anche quello di armonizzare le procedure per il biomonitoraggio umano nei 28 Paesi partecipanti, per fornire ai responsabili delle politiche dati comparabili sull'esposizione umana interna alle sostanze chimiche e alle miscele di sostanze chimiche a livello dell'UE. Il consorzio ha fornito ai partecipanti campioni di urina da analizzare e chiesto di inserire oltre ai dosaggi anche le procedure analitiche utilizzate a partire dalla preparazione dei campioni.

Le analisi del nostro laboratorio, unico laboratorio italiano partecipante, sono risultate in linea con quelle degli altri laboratori coinvolti.

In questa ottica l'interscambio tra i vari paesi europei diventa fondamentale ai fini di avere un dato comparabile nell'ambito del biomonitoraggio per valutare i percorsi di esposizione e indicare politiche mirate a ridurre l'esposizione a queste sostanze.

Seconda sessione

**LIFE PERSUADED: oltre la valutazione
dell'esposizione e degli effetti**

**Dai dati di progetto ai messaggi di salute:
il contributo dei pediatri**

Moderatori

Francesca Maranghi, Sabrina Tait

NETWORK DEI PEDIATRI: ATTIVITÀ NELL'AMBITO DI PERSUADED, ATTIVITÀ POST-PROGETTO E PROSPETTIVE FUTURE

Enrica Fabbrizi

Dirigente Medico di Pediatri, UOC di Pediatria, Ospedale A. Murri, ASUR Marche Area Vasta 4, Fermo

Nel 2015, dopo pochi mesi dall'inizio dello studio LIFE PERSUADED, in qualità di coordinatori della rete dei pediatri coinvolti nel progetto, avevamo voluto indagare, in maniera preliminare, la ricaduta dello studio sulla popolazione e quanto rilevante fosse l'impatto delle problematiche proposte.

Utilizzammo due sistemi:

- 1) Indagine condotta tramite i pediatri di famiglia. Il pediatra di famiglia rappresenta il miglior sistema di monitoraggio dei propri pazienti ed ha sempre presente, in maniera molto puntuale, gli effetti che sulla vita delle famiglie hanno alcuni argomenti di prevenzione o di cura.
- 2) Intervista diretta alle famiglie. Per condurre l'indagine chiedemmo ai pediatri di rispondere a 6 domande. Le domande riguardavano in primis la difficoltà nella compilazione dei questionari e il mantenimento della catena del freddo. Le successive erano rivolte a indagare l'entusiasmo con cui i bambini ed i genitori avevano vissuto la partecipazione ad uno studio che avrebbe portato a dei risultati nazionali, l'interesse per l'argomento e la precedente conoscenza delle problematiche ambientali. Da ultimo chiedemmo alle famiglie quanto importante fosse per loro la conoscenza dei risultati.

L'esito della nostra indagine fu molto positiva sia per il grande interesse mostrato dalla popolazione per le tematiche, sia per gli iniziali tentativi di cambiamento degli stili di vita.

Oggi, a distanza di 3 anni dall'inizio del progetto e a studio concluso, abbiamo voluto rivalutare l'impatto che esso ha avuto sui partecipanti (pediatri e famiglie).

I sistemi utilizzati sono stati gli stessi del 2015, ma le domande si sono per lo più rivolte a capire se la partecipazione avesse, ed in che modo, modificato la pratica clinica quotidiana dei colleghi pediatri di famiglia in merito ai temi dell'ambiente ed inoltre se l'essere attori del progetto LIFE PERSUADED avesse determinato per loro "un ritorno" in termini di qualità professionale; se i pazienti stessi avessero continuato nel loro iniziale tentativo di modifica degli stili di vita e se queste modifiche fossero consistenti e stabili; se la popolazione coinvolta avesse cominciato a richiedere maggiori informazioni riguardanti la prevenzione delle possibili malattie ambiente correlate.

Infine abbiamo chiesto loro di spiegarci se ritenessero utile trasferire le informazioni acquisite dallo studio alle famiglie e, in che modo e con quali sistemi, poter dare informazione ai colleghi che non hanno partecipato al progetto.

Dall'analisi delle risposte possiamo concludere che tutti i colleghi ritengono che la loro partecipazione al progetto LIFE PERSUADED ha contribuito ad incrementare la loro conoscenza e la loro curiosità riguardo al problema ftalati e Bisfenolo A e che la maggior

parte della popolazione ha mostrato tentativi di modifica nella scelta dei prodotti da acquistare, anche se questa attenzione è stata massima nei mesi immediatamente successivi allo studio, andando in seguito un po' affievolendosi.

Tutti sono concordi sulla necessità di coinvolgere i ginecologi nel processo di informazione considerata la grande importanza dell'esposizione nel periodo fetale.

A tale proposito a marzo 2018 a Colli del Tronto (AP) è stato organizzato un Congresso Congiunto di Ginecologia e Pediatria in cui è stato dato largo spazio alle tematiche ambientali e alla presentazione dello studio LIFE PERSUADED.

I colleghi suggeriscono che la diffusione delle informazioni dovrebbe essere capillare avvalendosi di metodi che spaziano dall'utilizzo di cartacei ed opuscoli esplicativi prodotti dal progetto (con indicazioni sulla possibile riduzione dell'esposizione in relazione ai dati derivati dai questionari sullo stile di vita dei bambini compilati al momento del loro arruolamento nello studio), alla stesura di newsletter periodiche da dare alle mamme, al coinvolgimento attivo dei medici, pediatri, ginecologi e popolazione nell'organizzazione di incontri sul territorio nazionale.

*Si ringrazia la **Rete dei Pediatri FIMP Marche**: P. Peruzzini (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 1), M. Bartolucci (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 1), B. Arcangeli (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 1), M. Mancino (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 1); P. Pierangelini (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 4), A. Gentili (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 4), G. Braico (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 4), L. Ciferri (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 4), V. Di Flavio (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 4), C.E. Eugeni (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 2), C. Migliori (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 2), M. Mora (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 2), B. Pimpini (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 2), M. Grugnetti (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 2), S. Bollettini (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 5), T. Piunti (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 5), A. Bottiglieri (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 5), L.M. Olimpi (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 5), A. Toscanelli (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3), C. Gobbi (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3), P. Gentilucci (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3), S. Salvatori (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3), G. Andrea (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3), U. Scuppa (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3), A. Ruggeri (Pediatria di libera scelta ASUR Marche Area Vasta 3).*

NETWORK DEI PEDIATRI: ATTIVITÀ NELL'AMBITO DI PERSUADED, ATTIVITÀ POST-PROGETTO E PROSPETTIVE FUTURE

Giacomo Toffol

Pediatra. Associazione Culturale Pediatri.

Il progetto LIFE PERSUADED ha visto la partecipazione di un network di pediatri di famiglia che sono stati coinvolti nell'arruolamento delle coppie madre-bambino tra i pazienti da essi seguiti. All'inizio e durante lo studio è stata effettuata una indagine questionaria per valutare le conoscenze e le attitudini di questi medici in relazione agli interferenti endocrini, ed in particolare agli ftalati ed al Bisfenolo A, ed ai rischi per la salute ad essi correlati. Sono state inoltre indagate le modalità di arruolamento dei pazienti nello studio, e le modalità di trasferimento di informazioni su queste tematiche. Hanno risposto al questionario inviato on line il 70% dei pediatri di famiglia partecipanti allo studio (60 su 87). Complessivamente questi pediatri seguono più di 50 mila bambini italiani. Prima dell'inizio dello studio più del 50% di essi non aveva grosse conoscenze sugli interferenti endocrini, ed addirittura il 17% di essi non ne aveva mai sentito parlare o ne conosceva solo il nome; il 44% ne aveva una conoscenza abbastanza approfondita. La maggior parte di questi ultimi aveva già fatto parte di gruppi di studio o di ricerca su questo argomento. L'80% dei pediatri non conosceva l'esistenza del programma europeo LIFE, ed addirittura il 95% non conosceva lo studio Demochopes. La disponibilità dei genitori a partecipare allo studio è stata ampia. Solo 5 pediatri hanno ricevuto un elevato numero di rifiuti da parte dei genitori (in media 16 coppie per ogni pediatra), mentre in tutti gli altri ambulatori i rifiuti sono stati compresi tra 0 e 6 (in media 1,5 coppie per pediatra). Ciò dimostra l'interesse della popolazione italiana per queste tematiche. Il 90% dei pediatri ha presentato lo studio con incontri individuali o anche di gruppo (14%) con i genitori, e sempre il 90% di loro ha dato la disponibilità ad ulteriori informazioni al momento della raccolta dei questionari e dei campioni urinari. Durante questi incontri i genitori coinvolti hanno dimostrato un grosso interesse per lo studio e per le tematiche dell'inquinamento in generale. Dopo la raccolta dei campioni, il 75% dei pediatri hanno approfittato dell'occasione per trasmettere informazioni di sicurezza e riduzione del rischio ai genitori: a voce nel 58% dei casi, mediante consegna di stampati nel 17%. Secondo i pediatri la maggior parte dei genitori coinvolti nello studio non erano a conoscenza dei possibili rischi delle sostanze plastificanti. Al termine dell'arruolamento tutti i genitori hanno dimostrato un elevato interesse per la tematica e per le possibili modalità con cui ridurre l'esposizione.

Durante ed al termine dello studio l'Associazione Culturale Pediatri ha organizzato numerosi momenti di incontro tra i suoi associati per diffondere maggiormente le conoscenze su queste sostanze sia tra i medici, sia tra la popolazione da essi assistita. Se ne è discusso durante i Congressi nazionali dell'associazione degli anni 2016 e 2017; è stato organizzato un corso di formazione sugli interferenti endocrini per medici, che è già giunto alla terza edizione.

Seconda sessione
LIFE PERSUADED: oltre la valutazione
dell'esposizione e degli effetti

Il progetto al servizio della diffusione
della ricerca scientifica

Moderatori

Francesca Maranghi, Sabrina Tait

LIFE PERSUADED NELLE INIZIATIVE SCIENTIFICHE TRA RICERCATORI E CITTADINI

Laura Narciso

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

Un ruolo del progetto LIFE PERSUADED è quello della comunicazione dei rischi derivanti dalla potenziale esposizione ai plasticizzanti sia alla popolazione generale sia al mondo scientifico. Nel corso del progetto, i messaggi alla popolazione sono stati diffusi ad un pubblico eterogeneo durante “Notte dei Ricercatori” o ad una audience selezionata di giovani studenti nel corso delle giornate dedicate all’ “Alternanza Scuola-Lavoro”.

Nel 2017, nel corso della “La Notte Europea dei ricercatori” il progetto LIFE PERSUADED è stato illustrato durante una delle quindici visite guidate, avente come titolo: Differenze maschio-femmina nella risposta alle sostanze chimiche. Un pubblico composto da persone esperte, come insegnanti o altri colleghi ricercatori, ma anche completamente estranee all’argomento (come i bambini delle elementari e i propri genitori) sono state coinvolte in attività didattiche e sensibilizzati all’argomento dei plasticizzanti ubiquitari a cui siamo regolarmente esposti durante la nostra vita. I partecipanti hanno anche svolto attività di laboratorio selezionate e mirate ad apprendere le metodiche utilizzate nell’identificazione del pericolo delle sostanze chimiche.

Dal 2016 l’Istituto Superiore di Sanità svolge in collaborazione con alcune scuole superiori di Roma, il progetto di Alternanza Scuola-Lavoro per rispondere all’esigenza crescente delle scuole di attivare percorsi formativi in ambito scientifico. Il percorso 2018 dal titolo: “Valutazione del rischio di sostanze chimiche nell’ottica delle differenze di genere” è stato organizzato interamente sulle attività del progetto LIFE PERSUADED. Gli studenti del IV e del V anno di 2 differenti Istituti romani sono stati informati sulla valutazione del rischio tossicologico derivante da esposizione a sostanze chimiche e sui potenziali diversi effetti su uomini e donne. Il progetto LIFE PERSUADED è stato utilizzato come esempio pratico. Gli studenti sono stati introdotti al problema dei plasticizzanti, hanno appreso le finalità del progetto e identificato il biomonitoraggio come strumento necessario per la misura dei livelli di contaminanti. Gli studenti hanno svolto anche attività sperimentali necessarie allo studio degli effetti delle sostanze chimiche ed infine hanno fornito un prodotto utile alla diffusione delle informazioni scientifiche acquisite che potesse interessare altri studenti della scuola secondaria.

Terza sessione
Aspetti regolatori e di salute

Moderatori

Luca Busani, Gabriele Aquilina

LA POLITICA EUROPEA SUGLI INTERFERENTI ENDOCRINI

Valentina Bertato

Directorate-General for the Environment, European Commission

Il Bisfenolo A e alcuni ftalati sono tra le prime sostanze ad essere state ufficialmente identificate con interferenti endocrini, grazie al processo di identificazione delle sostanze estremamente preoccupanti nel Regolamento Europeo REACH. L'azione europea sugli interferenti endocrini è però iniziata molto prima, con una risoluzione del Parlamento Europeo del 1998 che chiedeva alla Commissione Europea di agire, seguita dalla pubblicazione di una strategia della Commissione nel 1998. L'intervento percorrerà le azioni sugli interferenti endocrini prese a livello europeo, dalle specifiche legislazioni, alla definizione di criteri per la loro identificazione, allo sviluppo di metodi analitici e di banche dati, arrivando fino alla futura revisione della strategia europea.

I DATI DI LIFE PERSUADED E LORO RILEVANZA IN AMBITO REGOLATORIO

Carlo Zaghi

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Roma

Gli Interferenti Endocrini (IE) sono sostanze in grado di alterare il sistema endocrino sia nell'uomo che negli animali, compromettendo i principali processi vitali come crescita, sviluppo e riproduzione.

Nell'ambiente è stato osservato che gli interferenti endocrini causano anomalie nella riproduzione di alcune specie e negli equilibri tra le stesse. Gli interferenti endocrini, oltre che contaminanti ambientali "non intenzionali" (ad le diossine), possono essere presenti come sostanze "intenzionali" in prodotti di uso comune.

La normativa europea prende in considerazione gli interferenti endocrini, oltre che nell'ambito del regolamento REACH, nei regolamenti sui prodotti fitosanitari (regolamento (CE) n.1107/2009) e sui biocidi (Regolamento (UE) n.528/2012).

A questo riguardo, grazie ai criteri recentemente adottati per i prodotti fitosanitari e i biocidi, sarà possibile individuare e selezionare le sostanze che agiscono come interferenti endocrini, nell'ambito della normativa generale sulle sostanze chimiche, allo scopo di promuovere la loro sostituzione con alternative più sicure per l'uomo e per l'ambiente.

EXPOSURE AND PEDIATRIC DISEASE

Stefano Cianfarani

Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Chemicals that affect any aspect of hormonal function are referred to as Endocrine Disruptors (EDs). Exposure during critical periods of development, such as fetal and early postnatal life, may have particularly critical consequences with implications in research, patient care, prevention and public health.

The disrupting effects of chemicals on the endocrine system have gained increasing support from many cellular and animal models. In humans, though several epidemiologic studies have linked the exposure to exogenous chemicals to a variety of endocrine and nonendocrine dysfunctions and even organ malformations, the cause-effect relationship is less clear due to the objective difficulty in studying the complexity of human-environment interactions. Fetal growth restriction, premature birth, reproductive disorders, thyroid dysfunction, alterations of pubertal timing, immune dysfunction, certain cancers, especially of the reproductive organs, birth defects of the genitalia and poorer sperm quality, cryptorchidism, neurological effects, neuropsychiatric disorders, diabetes, obesity and other metabolic disorders have been associated with the exposure to EDs. The situation has been worrying clinicians and scientists and call-to-action statements have been published.

EDs are divided into major classes of chemicals including various types of pesticides, industrial chemicals, plastic packaging components, fuels and other materials that are used in daily life. The exposure may occur early in life as every pregnant woman has EDs in her body and may transfer them through the placenta to the fetus and through milk to the infant. Inhalation, oral and dermal exposures are the main routes of adult exposure to environmental chemicals. EDs may act via classical nuclear receptors, nonnuclear steroid hormone receptors, non steroid receptors, orphan receptors, enzymatic pathways involved in steroid biosynthesis and/or metabolism and other mechanisms involved in endocrine and reproductive system function. Unfortunately, the study of the biology and impacts is extremely complicated by a number of factors. Each human being is exposed to many different EDs over a lifetime and always to a mixture rather than a single compound. Exposure to low-dose mixtures of endocrine disrupting chemicals characterizes environmental conditions in human and wildlife. Effects may be not dose dependent, and even exposure to low doses of chemicals may induce disrupting effects. Different animal species react differently to the same compound, making it impossible to reliably infer effects from the observation of what occurs in wildlife to human beings. Age groups and sexes react differently. EDs may have transgenerational effects with impacts on health visible only in the next generations. These generational effects are thought to be mediated via epigenetic mechanisms that transmit ED effects to the next generations in the absence of direct exposure.

TAVOLA ROTONDA

LA COMUNICAZIONE AL CITTADINO: IL PORTALE ISSALUTE

Walter Malorni

Responsabile del Progetto ISSalute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nel corso degli ultimi anni la circolazione di notizie inesatte, infondate o, in molti casi, deliberatamente false ha avuto ricadute a volte drammatiche sulla salute di singoli cittadini o di intere fasce della popolazione. Offrire servizi diretti e trasversali ai cittadini per facilitare la corretta e coerente circolazione delle informazioni e sostenerne il buon uso è essenziale per promuovere stili di vita sani ed orientare su percorsi appropriati di assistenza. Obiettivo centrale della comunicazione nell'ambito della salute è fornire al cittadino adeguate conoscenze al fine di renderlo costruttore dei propri stili di vita, protagonista del proprio benessere e capace di interagire in modo responsabile con il SSN. Il Web, anche nel nostro paese, è la principale fonte di informazioni sulla salute e sull'assistenza sanitaria. Per gestire tale cambiamento e volgerlo a favore dei cittadini e del SSN, il Ministero ha redatto apposite "Linee guida per la comunicazione online in tema di tutela e promozione della salute". Inoltre, la realizzazione di specifiche campagne di comunicazione ha rappresentato uno degli strumenti più efficaci nel perseguimento degli obiettivi di salute presenti nel Piano Sanitario Nazionale. L'Istituto Superiore di Sanità ha già creato un sito web non sponsorizzato "ISSalute" nato per mettere a disposizione dei cittadini con un linguaggio semplice e comprensibile a tutti, indipendentemente dal grado di istruzione e competenza nelle materie tecnico-scientifiche, informazioni aggiornate, indipendenti e certificate sugli stili di vita, sull'alimentazione, sull'ambiente, sulle malattie e sui disturbi che provocano, sulle cause che le determinano e sulle cure disponibili. Inoltre, per sfatare molte "bufale" e falsi miti circolanti in tema di salute, sono state raccolte in una apposita sezione informazioni ingannevoli corredate dalle spiegazioni scientifiche che ne evidenziano l'infondatezza. Lo sviluppo della comunicazione istituzionale è un elemento fondamentale per migliorare la *Health literacy* di tutti i cittadini e consentire di effettuare scelte consapevoli alla popolazione italiana attraverso una comunicazione certificata e non sponsorizzata.

Sessione Poster

P.1 STUDIO PILOTA DI MONITORAGGIO DEI LIVELLI EMATICI DI INQUINANTI AMBIENTALI IN PAZIENTI CON PATOLOGIA TIROIDEA NODULARE

Vincenzo Marotta (1), Giacomo Russo (2,3), Claudio Gambardella (4), Marica Grasso (5), Domenico La Sala (6), Maria Grazia Chiofalo (1), Raffaella D'Anna (1), Alessandro Puzziello (5), Giovanni Docimo (4), Stefania Masone (7), Francesco Barbato (2,3), Annamaria Colao (7), Antongiulio Faggiano (7), Lucia Grumetto (2,3)

(1) *Struttura Complessa Chirurgia Oncologica della Tiroide, Istituto Nazionale Tumori, IRCCS, Fondazione G. Pascale, Napoli*

(2) *Laboratorio di Analisi Farmaceutica e Biofarmaceutica, Dipartimento di Farmacia, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi Federico II, Napoli*

(3) *Consorzio Interuniversitario INBB, Roma*

(4) *Dipartimento di Anestesiologia, Chirurgia ed Emergenze, Divisione di Chirurgia Generale ed Oncologia, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Caserta*

(5) *AOU San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona, Divisione di Chirurgia Generale, Dipartimento di Medicina, Chirurgia ed Odontoiatria, Università degli Studi, Salerno*

(6) *AOU San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona, Divisione di Endocrinologia e Diabetologia, Dipartimento di Medicina, Chirurgia ed Odontoiatria, Università degli Studi, Salerno*

(7) *Dipartimento di Clinica Medica e Chirurgia Università degli Studi Federico II, Napoli*

La maggior parte degli interferenti endocrini, a causa della loro ubiquitarità e della loro natura lipofila, sono particolarmente stabili e persistenti nell'ambiente, dando luogo a fenomeni di biomagnificazione e bioaccumulo. È stato perciò condotto uno studio pilota di monitoraggio di alcune sostanze, per lo più con accertata attività interferente endocrina e appartenenti a differenti classi chimiche, nel siero di persone residenti nella Regione Campania. Tale screening è stato effettuato al fine di individuare eventuali correlazioni tra l'esposizione a tali sostanze e lo sviluppo di tumori tiroidei, dal momento che è stato ipotizzato che la maggiore incidenza del tumore differenziato della tiroide (DTC) fosse in relazione con l'incrementata disseminazione di inquinanti ambientali, in virtù della loro capacità di esercitare effetti anche a basse dosi.

Sono stati analizzati i sieri di 55 pazienti con patologia nodulare tiroidea, di cui 27 con diagnosi di nodulo benigno della tiroide e 28 con DTC, determinando le concentrazioni di 15 sostanze assunte come markers di inquinamento. Esse includono 7 bisfenoli, tra cui il Bisfenolo A, il Dietilesilftalato (DEHP) e il suo principale metabolita Monoetilesilftalato (MEHP), 2 clorobenzeni, e 3 derivati fenolici (2-clorofenolo, 4-nonilfenolo e triclosan). Le analisi sono state condotte mediante cromatografia liquida ad elevata prestazione in fase inversa con rilevazione simultanea a fluorescenza ed UV/visibile.

È stata riscontrata una correlazione significativa tra insorgenza di DTC e rilevamento nel siero di Bisfenolo AF e DEHP. La relazione tra questi due agenti inquinanti ed il rischio di neoplasie (DTC) è risultata indipendente dalla dose e maggiore di quattordici volte. Ciò risulta probabilmente, da un'attività cancerogena diretta piuttosto che da un'azione inibitoria

esercitata sulla tiroide. Anche se tali dati sono da considerarsi preliminari e da confermare con studi prospettici più ampi, l'esposizione, anche a basse dosi, a questi contaminanti ambientali interferenti sul sistema endocrino, può essere considerata coerente con lo sviluppo del cancro della tiroide informazioni ingannevoli corredate dalle spiegazioni scientifiche che ne evidenziano l'infondatezza. Lo sviluppo della comunicazione istituzionale è un elemento fondamentale per migliorare la *Health literacy* di tutti i cittadini e consentire di effettuare scelte consapevoli alla popolazione italiana attraverso una comunicazione certificata e non sponsorizzata.

P.2 VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DEGLI EFFETTI DI INTERFERENTI ENDOCRINI SU TROTA FARIO (SALMO TRUTTA TRUTTA, LINNEO, 1758)

Carmine Merola, Daniela Zezza, Angelo Bisegna, Giovanni Angelozzi, Kamal Niaz, Michele Amorena, Monia Perugini
Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi, Teramo, Piano d'Accio, Teramo

Negli animali selvatici nei decenni scorsi, sono stati osservati disturbi dello sviluppo sessuale e della riproduzione ascrivibili alla presenza di Interferenti Endocrini (IE) nell'ambiente. In particolare, nei pesci alcuni IE, singolarmente ed in miscela (effetto cocktail) possono avere effetti negativi sul corretto sviluppo sessuale degli animali anche a concentrazioni molto basse. Infatti, il processo di femminilizzazione si verifica nei giovani durante la differenziazione del sistema endocrino e la Vitellogenina (VTG) è considerata un biomarker utile per valutare questo evento. La produzione di vitellogenina avviene normalmente nelle sole femmine mature sessualmente durante l'oogenesi, in risposta alle variazioni fisiologiche del 17 β -estradiolo. Nei maschi tale produzione è in condizioni normali assente, in quanto il gene preposto alla sintesi della proteina è mantenuto silente. La sua presenza nei pesci maschi indica pertanto, un'esposizione a IE con potenziale estrogenico.

Nel presente studio sono state campionate e sottoposte ad analisi 98 trote (Salmo trutta trutta, Linneo, 1758) provenienti dal fiume Liri (Abruzzo). Il fiume è stato suddiviso in tre transetti, uno a monte (sorgente), con scarsa contaminazione antropica, uno a valle, che riceve invece tutte le acque di scarico provenienti dalla valle del Fucino, zona sottoposta ad una agricoltura intensiva ed un transetto intermedio. All'esame anatomo-patologico, tutte le trote provenienti dal transetto a monte del fiume, anche quelle di piccole dimensioni, presentavano un discreto indice di accrescimento con gonadi sviluppate, ed in alcuni soggetti vi era anche la presenza di uova mature. Le trote provenienti dal transetto a valle hanno riportato un indice di accrescimento eccellente e tutti i soggetti di sesso femminile presentavano gonadi a diversi stadi di maturazione. I valori della vitellogenina hanno evidenziato una correlazione positiva ($r=0,34$ e $p>0,05$) solo con l'indice epato-somatico, mentre non sono risultati correlati ai parametri biometrici. Per quanto riguarda i valori di VTG riscontrati nelle trote, fatta eccezione per due esemplari, tutti i soggetti maschi hanno riportato valori compresi tra 5 ng/ml e 586,42 ng/ml, con un valore medio di 222,4 ng/ml. Inoltre, le trote provenienti dal sito a monte, hanno mostrato livelli di VTG più bassi rispetto a quelli ritrovati nelle trote del transetto a valle ($p<0,01$). L'analisi multiresiduale, effettuata per 340 molecole, ha evidenziato la presenza di insetticidi, erbicidi e fungicidi solo nelle trote provenienti dal transetto a valle. In tutti gli altri campioni i valori sono risultati al di sotto del limite di quantificazione del metodo. Nello specifico nel muscolo delle trote sono stati riscontrati: clorprofam (12 ng/g), pp'-DDD (39 ng/g), pp'-DDE (60 ng/g), pendimetalin (41 ng/g), tolclofos-metile (142 ng/g) e trifluralin (37 ng/g).

Dal presente lavoro è emerso una femminilizzazione dei soggetti maschi di trota fario probabilmente imputabile alla presenza di IE. Di particolare importanza è stata la

determinazione di alcuni composti organoclorurati utilizzati in agricoltura decenni fa ed ormai banditi, indicando, la persistenza ambientale di tali sostanze chimiche e la loro attuale pericolosità per la salute umana.

P.3 SEXUAL DIMORPHIC ORGANIZATIONAL EFFECT OF EARLY POSTNATAL GENISTEIN ADMINISTRATION ON MICE HYPOTHALAMIC NEUROENDOCRINE CIRCUITS

Marilena Marraudino (1,2), Giovanna Ponti (1,3), Alice Farinetti (1,2), Elisabetta Macchi (3), Paolo Accornero (3), Stefano Gotti (1,2), Paloma Collado (4), Matthieu Keller (5), GianCarlo Panzica (1,2)

(1) *Neuroscience Institute Cavalieri Ottolenghi, NICO, Regione Gonzole 10, Orbassano, Turin, Italy*

(2) *Laboratory of Neuroendocrinology, Department of Neuroscience, University of Turin, Turin, Italy*

(3) *Department of Veterinary Sciences, University of Turin, Grugliasco, Turin, Italy*

(4) *Department of Psychobiology, Universidad Nacional de Educación a Distancia, UNED, Madrid, Spain*

(5) *Physiologie de la Reproduction et des Comportements, UMR 7247 INRA/CNRS/Université Francois Rabelais Nouzilly, France*

Genistein (GEN), a phytoestrogen contained in soy and other legumes, may interfere with the endocrine system in multiple ways, including permanent morphological alterations of estrogen sensitive circuits in adult brain. Several estrogen-sensitive systems are influencing food intake and energy expenditure (NPY, POMC, Orexin). Among them, the Kisspeptin system originally identified as regulator of puberty and fertility.

We analyzed the effects of early postnatal treatment (PND1 to PND8) with GEN (50 mg/kg body weight, a dose comparable to the exposure level in babies fed with soy-based formulas) on CD1 mice of both sexes. We have evidenced the expression of the POMC, Orexin and Kisspeptin by immunohistochemistry within different hypothalamic nuclei, and we tested different physiological parameters related to metabolism and reproduction.

GEN induced sexually dimorphic effects, which were more severe in females. Body weight, plasmatic leptin, and T3 concentration were changed in females. GEN treatment in males induced a decrease of testicles' weight and of fecal testosterone concentration, while in females induced an advanced pubertal onset and an altered estrous cycle: in fact, the concentration of progesterone increased in the plasma and the mammary gland present more tertiary branches. Finally, early postnatal exposure of CD1 mice to GEN determines long-term sex specific organizational effects at the level of the central nervous system: POMC, Orexin and Kisspeptin immunoreactivity was significantly altered in animals.

In conclusion, GEN impairs reproductive system and have an obesogenic effect, which is due, at least partly, to alteration of the neuroendocrine regulation of metabolism, thus GEN may be classified as a Metabolism disrupting chemical.

P.4 INTERFERENTI ENDOCRINI NELL'AMBIENTE DI VITA E PUBERTÀ PRECOCE NELLA POPOLAZIONE FEMMINILE PIEMONTESE

Tiziana Schilirò (1), Luisa Desanctis (1,2), Marta Gea (1), Marzia Pezzolato (3), Elena Bozzetta (3)

(1) *Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi, Torino*

(2) *SSD Endocrinologia Pediatrica, Ospedale Infantile Regina Margherita, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino*

(3) *Centro di Referenza Nazionale Indagini Biologiche Anabolizzanti Animali, CIBA, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta*

Negli ultimi decenni, l'aumento dell'incidenza nella popolazione di malattie dell'apparato riproduttore, tumori ormone-dipendenti e obesità ha orientato la Comunità Scientifica sull'esposizione a sostanze definite Interferenti Endocrini (IE). Gli IE hanno un'ampia variabilità chimica, possono avere origine naturale, come i fitoestrogeni, o sintetica, come composti chimici industriali, commerciali (es. bisfenoli, PCB, parabeni, ftalati, PFOS) e fitofarmaci; sono stati rilevati in acqua, alimenti, suolo e aria, fonti di esposizione cronica.

Gli IE sono in grado di interferire con il funzionamento del sistema endocrino in modo diretto interagendo con i recettori ormonali endogeni o in modo indiretto modulando il metabolismo degli ormoni naturali.

Gli effetti degli IE sono influenzati da più parametri, cruciale risulta il periodo di esposizione e, quello di maggior vulnerabilità, si estende dallo sviluppo fetale alla pre-pubertà; è stato osservato un aumento dell'incidenza di criptorchidismo e ipospadia, disturbi neurocomportamentali e metabolici nell'età pre-puberale, e di Pubertà Precoce (PP). La pubertà è la fase dello sviluppo che porta verso l'età adulta con profondi cambiamenti psicosomatici; l'evento chiave che ne dà avvio è lo stimolo del GnRH ipotalamico sulla produzione delle gonadotropine ipofisarie.

Il monitoraggio dell'esposizione a IE risulta difficoltoso per la necessità di valutare concentrazioni ambientali nell'ordine di ng-pg attraverso analisi chimiche ad elevata performance, inoltre tali analisi, basate su composti *target*, non consentono di considerare la miscela di composti a cui un individuo risulta esposto. Il biomonitoraggio, invece, attraverso test *in vitro*, *effect-based*, è estremamente sensibile e permette di misurare l'attività estrogenica totale presente in un campione: test quali E-screen e Gene reporter assays sono basati sull'interazione tra IE e recettori ormonali.

Il progetto intende valutare la prevalenza della PP nella realtà piemontese e la possibile relazione con l'esposizione a IE negli ambiente di vita.

Il progetto sarà strutturato come uno studio epidemiologico pilota CASO-CONTROLLO dove i CASI saranno rappresentati da bambine di età inferiore agli 8 anni afferenti per PP alla Struttura di Endocrinologia Pediatrica dell'Ospedale Infantile Regina Margherita (OIRM) dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria Città della Salute e della

Scienza di Torino mentre i CONTROLLI saranno selezionati tra i bambini ricoverati in altri reparti dell'OIRM, non affetti da patologie endocrinologiche.

Lo studio permetterà di:

- evidenziare la prevalenza spazio-temporale del fenomeno PP attraverso un'analisi dei dati storici;
- raccogliere informazioni sugli stili di vita e sulle possibili fonti di esposizione a IE associabili a PP attraverso la somministrazione di un questionario;
- approfondire le conoscenze sul ruolo degli IE nella PP attraverso un biomonitoraggio basato sull'utilizzo di test *in vitro* col fine di valutare l'attività estrogenica totale presente nei campioni biologici (sangue) come biomarker di esposizione agli IE.

P.5 METHOD OF ASSESSMENT OF DEHP METABOLITES IN URINE SAMPLES FROM MOTHER-CHILD PAIRS OF LIFE PERSUADED PROJECT

Fabrizia Carli (1), Veronica Della Latta (1), Emma Buzzigoli (1), Demetrio Ciociaro (1), Melania Gaggini (1), Anna Paola Pala (1), Andrea Raffaelli (1), Raffaele Conte (1), Luca Busani (2), Francesca Maranghi (3), Sabrina Tait (3), Stefano Cianfarani (4,5), Cinzia La Rocca (3), Amalia Gastaldelli (1)

(1) *Istituto di Fisiologia Clinica, IFC-CNR, Pisa*

(2) *Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Rome*

(3) *Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Rome*

(4) *Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome*

(5) *Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Rome*

Introduction. Di-2-Ethylhexyl Phthalate (DEHP) is an Endocrine Disruptor Chemical (EDC) widely used as plasticizers in industry and in a large range of daily life products. The exposure to EDC is associated with the development of endocrine and metabolic diseases. The European project LIFE-PERSUADED aimed at the biomonitoring of phthalates (DEHP metabolites) and Bisphenol A exposure in Italian mother-children couples of different ages. In this contest, we developed UHPLC/MS-QTOF methods to monitor exposition to DEHP by the evaluation of its metabolites: mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate (MEOHP), mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate (MEHHP), in healthy pairs mother-child living in rural and urban area from North to South Italy.

Methods. Urine samples (500 µl) were treated with enzymatic deconjugation to hydrolyze the glucuronide and separate free phthalates. Compounds with ¹³C standard were purified with C18 SPE. A new method was set up to quantify DEHP metabolites by UHPLC/MS-QTOF (ZORBAX SB Phenyl 2.1x100mm 1.8 µm) with determination of Limits of Detection (LOD) and Quantification (LOQ), and repeatability of the measurements during the 3 years of analyses. The stability of phthalates after frozen/defrozen cycles to -20°C in urine samples was quantified over 3 years. All metabolite concentrations were normalized by urine creatinine concentration.

Results. From 2015 to 2017, we collected n=4003 morning urine samples of Italian healthy children and their mothers. We were able to quantify DEHP metabolites in all urine samples. Quality Control (QC) samples showed high repeatability of the results. LOD and LOQ were respectively: MEHP 0.20 and 0.63 ng/ml; MEHOP 0.35 and 0.43 ng/ml; MEHHP 0.55 and 0.55 ng/ml. Preliminary data in children (4-14 years, males, M and females, F) and mothers (Mo) showed that range were: MEHP 1.3-187.5 (F), 1.49-117.26 (M) and 1.9-51.8 (Mo); MEHHP 0.74-1,502.68 (F), 0.0052-953.75 (M) and 2.69-165.3 (Mo); MEOHP 0.82-303.82 (F), 1.27-827.03 (M) and 0.024-51.96 (Mo) µg/g of creatinine.

Conclusion. Our UHPLC/MS-QTOF methods is highly sensible and allowed the determination of MEHP, MEHOP and MEHHP in all samples with great reproducibility of the results over time. We observed wide exposure to DEHP in the Italian population that was higher in children than mothers.

P.6 EFFECTS OF ENVIRONMENTAL METABOLIC DISRUPTORS ON HEPATIC LIPIDOMIC PROFILE

Veronica Della Latta (1), Fabrizia Carli (1), Melania Gaggini (1), Francesca Maranghi (2), Roberta Tassinari (2), Sabrina Tait (2), Annalisa Deodati (3), Cinzia La Rocca (2), Amalia Gastaldelli (1)

(1) *Institute of Clinical Physiology, CNR, Pisa,*

(2) *Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy*

(3) *Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italy*

Introduction. Di-2-Ethylhexyl Phthalate (DEHP) is a phthalate used in many consumer products. It is metabolized in the liver to MEHP, MEOHP and MEHHP. These metabolites are able to alter organ lipid metabolism acting as metabolic disruptors. Since the liver is a key organ in whole body metabolism and waste handling, the aim was to quantify DEHP metabolites in liver tissues of rats exposed to different doses of DEHP by UHPLC/MS-QTOF and relate them to alteration in organ lipid profile.

Methods. We evaluated the effect of 28 days exposure to DEHP on hepatic metabolite accumulation and lipidomic profile. We studied 3 groups of rats (n=4 each, 2F/2M) exposed to low, medium and high dose *vs* non exposed. Lipids and DEHP metabolites were extracted from liver tissues (10-20mg) and analyzed with ZORBAX Eclipse Plus C18 and ZORBAX SB Phenyl 2.1x100mm 1.8 μ m columns respectively. Concentrations were quantified using internal standards (labelled for DEHP metabolites and unlabeled for lipids) added before the preparation.

Results. Hepatic concentrations of unconjugated DEHP metabolites (that reflects exposition) were increased after exposure especially in male compared to female rats. Different lipid composition was found in rats exposed to DEHP *vs* non exposed: Ceramide CER (18:1/24:0) and CER (18:0:24:1) known to be involved in apoptotic pathway, were significantly higher ($p<0.05$) in exposed rats indicating tendency to hepatic damage, while CER (18:2/20:0) was lower than in non-exposed rats ($p<0.05$). These ceramides were synthesized more in proportion to total hepatic accumulation of DEHP metabolites. After DEHP exposure we also observed decreased hepatic Phosphocholine (PC) (32:2) and Phosphoethanolamine (PE) (38:2) ($p<0.05$) and increased saturated Triacylglycerols (TAGs) and Diacylglycerols (DAGs), compounds known to be lipotoxic. Comparing lipidomic profile of male and female rats, male rats showed a higher hepatic concentration of all lipid classes analyzed.

Conclusions. Rats exposed to DEHP showed a different hepatic lipid composition compared control rats, in particular in lipids involved in lipotoxicity and apoptosis, that increased with dose of exposure and male gender.

P7 PHTHALATES EXPOSURE AS DETERMINANT OF ALBUMINURIA IN TYPE 2 DIABETES SUBJECTS: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Fabrizia Carli (1), Alessandro Mengozzi (2), Edoardo Biancalana (2), Veronica Della Latta (1), Marta Seghieri (2), Anna Solini (3), Amalia Gastaldelli (1)

(1) *Istituto di Fisiologia Clinica, IFC-CNR, Pisa, Italy*

(2) *Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Pisa, Pisa, Italy*

(3) *Department of Surgical, Medical, Molecular and Critical Area Pathology, University of Pisa, Pisa, Italy*

Introduction. Recent epidemiological observations have reported an association among phthalates exposure and insulin resistance, obesity and diabetes, but no studies have so far related the exposure to these environmental pollutants with microvascular complications of diabetes. Recent observations showed that DEHP and its metabolites are associated with a higher prevalence of low-grade albuminuria and microalbuminuria in children daily-exposed to higher phthalates concentrations. However, this association has not been verified yet in an adult population, and no studies have so far addressed the relationship between presence of these compounds in urines of T2D individuals and their renal function. The aim of this study was to explore the relationship between DEHP metabolites and renal function in diabetic subjects.

Methods. We analyzed 209 urine samples of adult diabetic patients with different degrees of albuminuria: 75.5% normoalbuminuric, 19.7% microalbuminuric, 4.8% macroalbuminuric. By UHPLC/QTOF system we measured total concentrations of three phthalate urinary metabolites of di-2-ethylhexylphthalate (DEHP): mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate (MEOHP), mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate (MEHHP). Glomerular filtration rate (GFR) was calculated using CDK-EPI formula.

Results. Creatinine-adjusted urinary concentrations of MEHP, MEOHP, MEHHP were 7.53 [4.84-12.60] $\mu\text{g/g}$, 3.04 [1.03-5.14] $\mu\text{g/g}$ and 10.70 [7.02-17.40] $\mu\text{g/g}$ respectively. Exposure to MEHP and MEOHP was higher in micro/macroalbuminuric individuals (MEHP, $p < 0.02$; MEOHP, $p < 0.04$); 4th vs 1st quartile showed higher risk of albuminuria (MEHP: OR 4.83 [CI 1.45-16.06], $p < 0.03$; MEOHP: OR 3.29 [CI 1.08-10.04], $p < 0.04$). MEOHP was higher ($p = 0.034$) in subjects with cardiovascular events, MEHP showed a positive trend ($p = 0.061$).

Conclusions. Our findings reveal for the first time an association between exposure to DEHP metabolites and degree of albuminuria in diabetic subjects; the lack of relation with GFR suggests their urinary levels to be independent of renal function, being rather a sign of widespread microvascular damage.

P.8 LIFE PERSUADED PROJECT: ASSESSMENT OF BPA IN URINE SAMPLES OF MOTHER-CHILD PAIRS

Veronica Della Latta (1), Fabrizia Carli (1), Emma Buzzigoli (1), Demetrio Ciociaro (1), Melania Gaggini (1), Anna Paola Pala (1), Andrea Raffaelli (1), Raffaele Conte (1), Luca Busani (2), Francesca Maranghi (3), Sabrina Tait (3), Stefano Cianfarani (4,5), Cinzia La Rocca (3), Amalia Gastaldelli (1)

(1) *Istituto di Fisiologia Clinica, IFC-CNR, Pisa, Italy*

(2) *Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy*

(3) *Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy*

(4) *Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italy*

(5) *Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Rome, Italy*

Introduction. Bisphenol A (BPA), extensively used as plasticizer, is a non-persistent environmental contaminant. The well documented presence of BPA in human biological samples raises health concern since it acts as Endocrine Disruptor (EDs), thus potentially affecting human health. In the LIFE PERSUADED project we compared UHPLC/MS-QTOF and GCMS methods to monitor exposition to BPA in n=900 healthy pairs mother-child living in rural and urban area from North to South Italy. Questionnaires on lifestyle and nutrition were recorded.

Methods. Urine samples (500 µl) were treated with enzymatic deconjugation to hydrolyze the glucuronide and separate free phthalates and BPA. Compounds with ¹³C standard were purified with C18 SPE. BPA was first quantified by UHPLC/MS-QTOF (ZORBAX SB Phenyl 2.1x100mm 1.8 µm); the sample was then derivatized with BSTFA 1%TMS and acetonitrile and BPA was quantified by GCMS in selective ion monitoring (J&W DB-5MS 30m, 0.25mm, 0.25µm) and normalized by urine creatinine.

Results. From 2015 to 2017, we collected n=4003 morning urine samples of Italian healthy children and their mothers. BPA analyses by UHPLC/MS-QTOF were affected by a matrix effect that was evident only in deconjugated samples. For this reason, after UHPLC/MS-QTOF analysis samples were dried and derivatized with BSTFA to be analyzed in GCMS. We were able to quantify the presence of BPA in all measured urine samples. Limit of Quantification (LOQ) was 4 ng/ml starting from 500 µl of urine samples purified with C18S SPE. Calibration curves showed linearity of the method obtained with this range: 4 ng/ml-100 ng/ml of BPA. Quality control samples run together with samples showed good stability of the analysis over time.

Preliminary data in children (4-14 years, males, M and females, F) and mothers (Mo) showed that in children total urine BPA was higher in Males (M) compared to Female(F), range was 0.951-1146.786 µg/g of creatinine (M) vs 0.69-1036.55 µg/g of creatinine (F). Children had also higher urine BPA compared to mothers (0.84-43.78 µg/g of creatinine).

Conclusions. GCMS (not UHPLC/MS-QTOF) allowed us the determination of total urine concentration of BPA (conjugated plus unconjugated) starting from the same sample used to

analyze DEHP metabolites with UHPLC/MS-QTOF. Recent epidemiological observations have reported an association among phthalates exposure and insulin resistance, obesity and diabetes, but no studies have so far related the exposure to these environmental pollutants with microvascular complications of diabetes. Recent observations

P.9 REVISIONE SISTEMATICA DELL'ASSOCIAZIONE TRA ESPOSIZIONE AMBIENTALE DEI BAMBINI AL PIOMBO E IL DISTURBO DA DEFICIT DI ATTENZIONE/IPERATTIVITÀ (ADHD)

Gabriele Donzelli (1), Annalaura Carducci (1), Maria Morales Suárez-Varela (2)

(1) *Dipartimento di Biologia, Università degli Studi, Pisa*

(2) *Unit of Public Health, Hygiene and Environmental Health, Department of Preventive Medicine and Public Health, Food Science, Toxicology and Legal Medicine, University of Valencia, Valencia, Spagna*

Introduction. Il piombo è una sostanza neurotossica, presente nell'ambiente, in grado di interferire con lo sviluppo cerebrale. In particolare i bambini sono maggiormente vulnerabili agli effetti tossici del piombo e possono avere effetti negativi per lo sviluppo del cervello e del sistema nervoso centrale. L'obiettivo di questo studio è stato di effettuare una revisione sistematica della letteratura epidemiologica attualmente disponibile sulla relazione tra esposizione ambientale al piombo e diagnosi del Disturbo da Deficit Di Attenzione/Iperattività (ADHD).

Materiale e metodi. I databases PubMed e EMBASE sono stati interrogati dal 1° al 30 luglio 2018. A questo scopo sono state utilizzate le seguenti parole chiave: (“environmental” OR “pollution” OR “lead”) AND “hyperactivity disorder”). Sono stati inclusi nella revisione tutti gli studi osservazionali (coorte e caso-controllo) su soggetti umani pubblicati in lingua inglese nel periodo compreso tra il 1° luglio 2013 e il 30 giugno 2018. Sono stati presi in considerazione solo gli studi che hanno osservato l'esposizione al piombo durante la gravidanza o nella prima infanzia e che riportavano una diagnosi del ADHD.

Risultati. In totale, 17 studi tratti da 9 Paesi diversi hanno soddisfatto i criteri di inclusione: 5 studi di coorte, 2 studi trasversali e 10 studi caso-controllo. Le dimensioni del campione variavano da 117 a 2.195, per un totale di 8.940 partecipanti. 5 studi non hanno trovato alcuna associazione tra esposizione al piombo e ADHD mentre gli altri 12 hanno mostrato un'associazione positiva.

Discussione. Le evidenze derivanti dagli studi dimostrano la presenza di un'associazione tra l'ADHD e l'esposizione al piombo e che anche bassi livelli contribuiscono ad aumentare il rischio. Tuttavia c'è ancora una mancanza di studi longitudinali che limita le conoscenze sull'argomento. Considerato l'impatto socio-economico di questo disturbo, ulteriori ricerche che includano tutte le potenziali sorgenti di rischio sono necessarie.

P.10 APPROCCIO INTEGRATO PER LA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE DI BAMBINE A PESTICIDI E TELARCA PRECOCE

Lucia Coppola (1,5), Sabrina Tait (1), Enrica Fabbrizi (2), Gabriella Berardi (2), Laura Narciso (1), Monia Perugini (3), Serena Tolini (3), Lorella Ciferri (4), Cinzia La Rocca (1)
(1) *Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(2) *UOC di Pediatria Ospedale di Fermo A. Murri, Azienda Sanitaria Unica Regionale, ASUR, Marche Area Vasta, Fermo*
(3) *Università degli Studi, Teramo*
(4) *Pediatra di Famiglia, Azienda Sanitaria Unica Regionale, ASUR, Marche Area Vasta 4, Fermo*
(5) *Sapienza Università di Roma, Roma*

Molti pesticidi, tra cui acaricidi, insetticidi, erbicidi e fungicidi, possono interferire con le normali funzioni ormonali dell'organismo inducendo effetti estrogenici o anti-androgenici, capacità di disregolazione della sintesi ormonale o attività simil-tiroidea e pertanto sono considerati interferenti endocrini. La popolazione generale è esposta ai pesticidi principalmente per via alimentare, considerando la presenza di multiresidui negli alimenti, sebbene al di sotto dei limiti massimi consentiti. L'esposizione a multiresidui è un rischio soprattutto per i bambini che sono uno dei gruppi più suscettibili agli effetti degli interferenti endocrini, essendo organismi in via di sviluppo, con caratteristiche fisiologiche, alimentari e stili di vita differenti rispetto agli adulti.

L'esposizione ai pesticidi può essere considerata un importante fattore di rischio associato a pubertà precoce e telarca. Recenti osservazioni effettuate in Italia Centrale (provincia di Fermo), area di intensa attività agricola, dimostrano un incremento nella comparsa di telarca precoce nelle bambine.

Al fine di valutare la possibile associazione tra la patologia evidenziata e l'esposizione a pesticidi è stato proposto un approccio integrato nell'ambito di un progetto di ricerca finalizzata di recente approvazione. Esso include uno studio caso-controllo con l'arruolamento di bambine con telarca precoce; la raccolta dati sul consumo degli alimenti mediante un questionario di frequenza alimentare; la caratterizzazione dell'area geografica in esame; l'analisi chimica di quarantacinque differenti pesticidi nelle urine delle bambine e in diversi gruppi di alimenti (verdura, frutta, pesce, uova, miele, cereali, carne, latticini) prodotti localmente; la raccolta di dati pubblici disponibili sull'utilizzo di pesticidi e consumo di alimenti da parte dei bambini. Inoltre, saranno valutati gli effetti tossicologici di tre principali pesticidi (glyphosate, imidacloprid e clorpyrifos), da soli o in miscela, alle concentrazioni reali mediante modello *in vitro*. In particolare, la linea cellulare umana di mammella (MCF-7), quale principale organo coinvolto nel telarca, sarà trattata per lo studio degli effetti sulla proliferazione cellulare, sull'espressione di recettori nucleari (ER α , ER β , AR, AhR, P γ R) e della genotossicità.

L'integrazione dei dati fornirà una stima del rischio predittiva dei potenziali effetti per la salute delle bambine, connessa con i livelli di esposizione reale. Inoltre, fornirà gli strumenti adeguati da considerare per la valutazione del rischio, applicabili in condizioni

ambientali simili e in casi di allerta sanitaria, così come lo sviluppo di un rapido metodo analitico per la determinazione di multiresidui potrà essere considerato nei programmi di monitoraggio e prevenzione per la valutazione di interferenti endocrini.

Il progetto di Ricerca Finalizzata (RF-2016-02364628) “Integrated approach to evaluate children agricultural pesticide exposure and health outcome” è stato finanziato dal Ministero della Salute

P.11 STIMA DELL'ESPOSIZIONE A BISFENOLO A E DEHP DELLA POPOLAZIONE GENERALE DI CATANIA: CONTRIBUTO DEL LABORATORIO DI IGIENE AMBIENTALE E DEGLI ALIMENTI (LIAA) DEL DIPARTIMENTO GF INGRASSIA, UNIVERSITÀ DI CATANIA

Maria Fiore, Antonio Cristaldi, Pietro Zuccarello, Gea Oliveri Conti, Margherita Ferrante
Dipartimento G.F. Ingrassia, Università degli Studi, Catania

Introduzione. Il Bisfenolo A (BPA) insieme agli ftalati (es. DEHP uno degli ftalati maggiormente utilizzati) rappresentano i principali additivi delle plastiche. La potenziale vasta esposizione umana, l'interazione con i recettori estrogeni alfa e beta, nonché con altri recettori nucleari, e ripetuti "allarmi" hanno motivato l'attenzione verso queste sostanze da parte della comunità scientifica e delle agenzie deputate alla valutazione del rischio. Pertanto i ricercatori del LIAA, già a partire dal 2012, hanno indagato l'esposizione della popolazione generale (adulti e bambini) a BPA e DEHP; attualmente è in fase di reclutamento uno studio di tipo analitico volto ad indagare l'eventuale associazione fra tali sostanze e la patologia endometriosa.

Materiale e metodi. La stima dell'esposizione a BPA e DEHP è stata effettuata attraverso la misura di specifici biomarcatori urinari (BPA totale, glucuronide e libero, DEHP e i seguenti metaboliti: 5OH-MEHP, 5OXO-MEHP, 5CX-MEPP) nelle urine delle 24 ore. I dati socio-demografici, abitudini e stile di vita sono stati raccolti utilizzando un questionario costruito *ad hoc*. L'elaborazione dei dati è stata effettuata utilizzando il software SPSS versione 21.0. Il livello di significatività è stato settato a $p < 0,05$. In occasione del reclutamento nelle scuole ai genitori sono state fornite informazioni sulle abitudini da adottare allo scopo di ridurre il più possibile l'esposizione.

Risultati. I risultati hanno messo in evidenza una maggiore esposizione, seppur non significativa, dei bambini al BPA rispetto agli adulti ($0,05 \mu\text{g/L}$ vs $0,04 \mu\text{g/L}$) e dei bambini rispetto alle bambine ($0,06 \mu\text{g/L}$ vs $0,05 \mu\text{g/L}$). Nessuno dei soggetti aveva una esposizione tale da superare la dose giornaliera tollerabile definita dall'EFSA per il BPA. Anche la stima del Total Daily Intake, relativa alla somma dei singoli metaboliti del DEHP, non superava la TDI e nemmeno la RfD. Infine, il confronto dei livelli urinari dei metaboliti del DEHP con le aree di residenza, ha evidenziato una esposizione significativamente più elevata nell'area non urbana per i seguenti metaboliti: 5OXO, 5CX. Non sono state evidenziate differenze significative dei livelli dei metaboliti urinari in relazione all'età, al genere, alle condizioni staturali e ponderali e nemmeno fra i fumatori e i non fumatori. I risultati ottenuti non garantiscono che la popolazione indagata e a maggior ragione i gruppi più sensibili, costantemente esposti a queste molecole, siano protetti dai potenziali rischi legati all'attività di interferenti endocrini ad essi attribuita.

P.12 UN APPROCCIO INNOVATIVO NELL'USO DEI PESTICIDI NELLA VITICOLTURA DELLA PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO

Gabriele Lori (1,3), Roberta Tassinari (1), Laura Narciso (1), Cinzia La Rocca(1), Sabrina Tait (1), Angelo Giovanazzi (2), Graziano Molon (2), Mauro Varner (2), Francesca Maranghi (1)

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

(2) *Consorzio Vini del Trentino, Trento*

(3) *Università degli Studi di RomaTre, Roma*

Il Piano d'azione nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari (2014) afferma l'importanza della ricerca e dell'innovazione per l'uso corretto e mirato dei pesticidi. Sebbene si tratti sempre di prodotti il cui utilizzo nelle colture viti-vinicole è approvato e sottoposto a controllo, molti agrofarmaci tuttora in uso sono oggetto di studi scientifici che hanno mostrato il loro potenziale di Interferenti Endocrini (IE), sostanze in grado di interagire con l'omeostasi ormonale dell'organismo causando effetti a breve, medio e lungo termine nella popolazione, soprattutto nelle fasi suscettibili del ciclo vitale (infanzia, gravidanza, terza età). Sostanze come il clorpirifos, tra i più diffusi insetticidi organofosforici, ed il Mancozeb, in particolare l'Etilentiurea (ETU) suo principale metabolita attivo, noto fungicida appartenente alla famiglia dei etilen-bis-(ditiocarbammati), sono IE con effetti specifici a carico della tiroide. L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ed il Consorzio Vini del Trentino (CVT) collaborano dal 2011 per una viticoltura salubre e sostenibile contribuendo attivamente, mediante progetti di ricerca e formazione, alla realizzazione sul territorio del Piano d'Azione Nazionale.

2011-2013 (progetto pilota). Analisi critica tossicologica di dati scientifici aggiornati per consentire agli agronomi del CVT di elaborare disciplinari *ad hoc* di minore impatto su salute ed ambiente; 2014-2017 Attività del progetto pilota e comunicazione scientifica di formazione e informazione degli operatori locali; 2018-2020 Valutazione e confronto dei disciplinari tradizionali e del CVT, impiegati nella difesa da patologie quali Peronospora ed Oidio, mediante test tossicologici *in vitro* su linee cellulari umane.

Nell'ambito della collaborazione, l'ISS ha esaminato oltre 40 diversi agrofarmaci elaborando schede di valutazione tossicologica basate sull'analisi della più aggiornata letteratura, banche dati e letteratura grigia. Da queste schede gli agronomi del CVT hanno selezionato secondo le esigenze specifiche i principi attivi da utilizzare sul territorio, definendo disciplinari *ad hoc* basati sulla sostituzione dei fitosanitari più critici per la salute e l'ambiente, senza ripercussioni sulla produzione vinicola. Inoltre sono stati sviluppati strumenti e criteri per la formazione ed informazione degli operatori agricoli in accordo con il piano d'azione nazionale. Infine il progetto in corso permetterà, mediante sperimentazione *in vitro* su linee cellulari umane (es. tiroide, fegato, polmone), di valutare e confrontare i potenziali effetti delle miscele dei principi attivi utilizzati per la lotta alle patologie della vite in due distinti disciplinari viticoli, quello tradizionale e quello Trentino adottato dal CVT.

Studio in vitro sui potenziali effetti tossicologici dei principi attivi e loro miscele utilizzati contro la peronospora e l'oidio nel disciplinare trentino e nel disciplinare tradizionale: strumenti per formazione ed informazione della popolazione nell'ottica delle differenze legate al sesso. (15/01/2018 - 14/01/2021)

P.13 PROMOZIONE DELLA SALUTE ED EDUCAZIONE ALIMENTARE NELLE SCUOLE: IL PROGRAMMA MAESTRANATURA

Claudio Giovannini, Annalisa Silenzi, Giulia Sturabotti, Beatrice Scazzocchio, Rosaria Vari, Andrea Ruiz Martinez, Patrizia De Sanctis, Massimo D'Archivio, Carmela Santangelo, Antonio D'Amore, Roberta Masella

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

L'aumento dell'obesità è dovuto ad abitudini alimentari scorrette quali lo scarso consumo di verdura e frutta, l'elevato consumo di zuccheri attraverso bevande gassate e dolci, l'elevato consumo di cibi ad alto contenuto energetico ma a basso livello di nutrienti essenziali, l'aumentato consumo di piatti confezionati. L'obesità deve essere considerata una vera e propria patologia perché fattore determinante di rischio per lo sviluppo delle malattie non trasmissibili quali il diabete di tipo 2, le malattie cardiovascolari e diverse forme di cancro.

L'obesità colpisce tutte le fasce d'età compresa l'infanzia e l'adolescenza. La prevalenza di sovrappeso/obesità in età pediatrica è in aumento in tutto il mondo e in Italia raggiunge il 36,8%.

Le abitudini nutrizionali si instaurano in età infantile, principalmente in ambito familiare e condizionano fortemente il destino metabolico del bambino e dell'adolescente influenzando le future scelte alimentari dell'individuo adulto. Sono necessari quindi programmi di educazione alimentare per i bambini, che coinvolgano contemporaneamente la scuola e la famiglia e favoriscano l'integrazione tra l'attività didattica, l'apprendimento e l'azione delle famiglie.

L'Istituto Superiore di Sanità con il programma di didattica delle scienze e di educazione alimentare MaestraNatura si rivolge agli studenti delle elementari e delle medie, ai loro insegnanti e ai loro genitori, con l'obiettivo ultimo di favorire cambiamenti negli stili di vita non solo dei ragazzi ma anche dei componenti della loro famiglia.

Il programma, che si avvale di una piattaforma di *e-learning*, accessibile agli insegnanti, agli studenti e ai genitori, propone un percorso formativo attraverso un approccio innovativo di tipo esperienziale, in cui si impara a conoscere gli alimenti da diverse prospettive, cucinando a casa e facendo esperimenti a scuola. Seguendo questo percorso i ragazzi acquisiscono gradualmente conoscenze di base sugli alimenti, sulla loro origine e composizione, sui principi fondamentali della nutrizione, sulla importanza di una buona alimentazione e della sua eco-sostenibilità. Il programma MaestraNatura è attivo dal 2013, fino ad oggi ha coinvolto: 5 regioni, 580 scuole, 1.800 classi di primaria, 865 di secondaria di primo grado, 630 insegnanti, 12.000 studenti.

P.14 TUTELARE LA SALUTE ATTRAVERSO PROGRAMMI DI EDUCAZIONE ALIMENTARE E DIVULGAZIONE SCIENTIFICA (SOLEDAD)

Annalisa Silenzi, Claudio Giovannini, Giulia Sturabotti, Beatrice Scazzocchio, Rosaria Vari, Patrizia De Sanctis, Massimo D'Archivio, Carmela Santangelo, Antonio D'Amore, Roberta Masella

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

L'aumento delle malattie croniche non trasmissibili rappresenta un'enorme sfida per un sistema sanitario sostenibile che voglia fare della prevenzione primaria il suo strumento principale. Ogni singolo decesso causato dai principali fattori di rischio collegati agli stili di vita è, per definizione, evitabile se si seguono elementari norme di comportamento, rispettose di modelli salutaris di cui è nota l'efficacia nel prevenire l'insorgenza della stragrande maggioranza delle malattie croniche.

In questo ambito, trovano ampia ragione di esistere attività di ricerca mirate alla promozione di corretti stili di vita e, in primo luogo, di una sana alimentazione. La necessità di interventi e politiche di prevenzione in ambito nutrizionale è prerogativa della popolazione nel suo complesso e riguarda tutte le fasce d'età, poiché gli effetti negativi legati ad uno scorretto stile di vita si ripercuotono tanto sugli adulti quanto sui bambini.

Per questo diventano quanto mai necessari programmi didattici di educazione alimentare che si pongano come obiettivo il trasferire agli studenti conoscenze su alimenti e nutrizione così da indurre in loro una maggiore consapevolezza sull'importanza di sane abitudini alimentari.

Inoltre, se da un lato è necessario puntare sull'educazione e la conoscenza nelle fasce d'età scolare, non si può sorvolare su quelle che sono le lacune e le errate convinzioni radicate anche nel mondo degli adulti. Infatti, nonostante la scienza dell'alimentazione e della nutrizione umana faccia continui progressi e ottenga sempre più credibilità in quanto arma di prevenzione fondamentale, ci sono ancora forti resistenze e difficoltà da superare, alimentate da uno stile di vita sempre più sedentario e un contesto mediatico che fornisce informazioni nutrizionali spesso contraddittorie generando molta confusione.

Alla luce di ciò, il progetto SoLEDAD si propone di coinvolgere:

- studenti della scuola primaria e secondaria di primo livello, a cui viene presentato il percorso formativo del programma didattico MaestraNatura, progetto sperimentale coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità in collaborazione con il Ministero della Salute e il Ministero dell'Istruzione;
- un campione di popolazione che utilizza i più comuni canali mediatici e che rappresenta la fascia più a rischio di disinformazione mediatica in merito alle false credenze sulla nutrizione, sul quale viene utilizzata proprio la piattaforma web 2.0 come mezzo primario di corretta comunicazione, attraverso l'elaborazione di contributi scientifici in campo nutrizionale.

Obiettivo del presente progetto è quello di identificare i principali determinanti di comportamenti alimentari scorretti al fine di realizzare e valutare l'efficacia di programmi di educazione alimentare e divulgazione scientifica.

P.15 URINARY LEVELS OF PHTHALATES IN AN ITALIAN SAMPLE OF PRESCHOOLERS WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS VS TYPICAL DEVELOPMENT CHILDREN

Letizia Guiducci (1), Elisa Santocchi (2), Fabrizia Carli (1), Veronica Della Latta (1), Margherita Prospero (2), Emma Buzzigoli(1), Sabrina Tait (4), Luca Busani (4), Sara Calderoni (3), Maria Aurora Morales (1), Cinzia La Rocca (4), Filippo Muratori (3), Amalia Gastaldelli (1)

(1) *Institute of Clinical Physiology, CNR, Pisa, Italy*

(2) *IRCCS Stella Maris Foundation, Pisa, Italy*

(3) *Department of Developmental Neuroscience, Stella Maris Scientific Institute and University of Pisa, Pisa, Italy*

(4) *Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy*

Background. Recent studies have shown a possible link between Autism Spectrum Disorders (ASD) and the exposure to phthalates (ubiquitous plasticizers potentially "neurotoxic"). Therefore, the phthalates represent an interesting candidate risk factor for ASD pathogenesis.

Objectives. We evaluated the exposure to phthalates by measuring the urinary levels of the primary and secondary metabolites of DEHP [di-(2-ethylhexyl) phthalate] in ASD preschoolers in order to compare their levels with those of healthy children.

Methods. A group of 77 preschoolers with ASD (male: 64, female: 13; mean age: 4.2 ± 0.1 years) was compared with a group of 146 Typical Development (TD) children (male: 69, female: 77; mean age: 4.7 ± 0.0 years), with similar BMI (15.9 ± 0.2 vs 15.6 ± 0.1 kg/m²) participating to the LIFE PERSUADED project. Analysis of urinary free DHEP-metabolites, i.e., primary MEHP [mono-(2-ethylhexenyl) 1,2-benzenedicarboxylate], and secondary MEHHP [mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) 1,2-benzenedicarboxylate], MEOHP [mono-(2-ethyl-5-oxohexyl) 1,2-benzenedicarboxylate], was performed in urine spot samples. DHEP-metabolites were extracted by SPE-cartridge C18 after deconjugation with β -glucuronidase and analyzed by UHPLC-ESI-QTOF (Quadrupole Time-of-Flight with electrospray ionization as source) vs labeled internal standards. The concentrations were then normalized to urinary creatinine concentrations and results of ASD group were compared with TD group. Statistical differences between groups were evaluated using Mann-Whitney rank sum test (continuous non-normally distributed).

Results. The analysis of urinary DEHP metabolites showed that MEHP was the least represented urinary metabolite, and its concentration was lower in ASD vs TD group (median[IQ] 8.2[6.9] vs 10.8[7.6], $\mu\text{g/g}$ $p=0.003$). The MEHHP levels tended to be lower in ASD vs TD group (14.0[13.9] vs 16.2[17.0], $\mu\text{g/g}$ $p=0.06$) while no statistical difference was observed with MEOHP (27.9[26.3] vs 31.2[28.4], $\mu\text{g/g}$). No statistical difference was observed between males and females.

Conclusions. These data showed lower urinary concentrations of phthalate metabolites (MEHP and MEHHP) in preschoolers ASD children as compared to TD.

These results suggest further investigation to clarify whether the differences might be due to a different metabolism or to other excretion pathways of these environmental pollutants.

INDICE DEGLI AUTORI

Accornero P.; 41
Amorena M.; 39
Angelozzi G.; 39
Barbato F.; 37
Berardi G.; 51
Bertato V.; 31
Biancalana E.; 47
Bisegna A.; 39
Bottaro G.; 10
Bozzetta E.; 42
Busani L.; 5; 44; 48; 59
Buzzigoli E.; 44; 48; 59
Calderoni S.; 59
Carducci A.; 50
Carli F.; 17; 44; 46; 47; 48; 59
Chiofalo M.G.; 37
Cianfarani S.; 33; 44; 48
Ciferri L.; 51
Ciociaro D.; 44; 48
Colao A.; 37
Collado P.; 41
Conte R.; 44; 48
Coppola L.; 51
Cristaldi A.; 53
D'Amore A.; 56; 57
D'Anna R.; 37
D'Archivio M.; 56; 57
De Sanctis P.; 56; 57
Della Latta V.; 4; 44; 46; 47; 48; 59
Deodati A.; 9; 46
Desanctis L.; 42
Docimo G.; 37
Donzelli G.; 50
Fabbrizi E.; 21; 51
Faggiano A.; 37
Farinetti A.; 41
Ferrante M.; 53
Fiore M.; 53
Gaggini M.; 44; 46; 48
Gambardella C.; 37
Gastaldelli A.; 4; 17; 44; 46; 47; 48; 59
Gea M.; 42
Giovanazzi A.; 54
Giovannini C.; 56; 57
Gotti S.; 41
Grasso M.; 37
Grumetto L.; 37
Guiducci L.; 59
Keller M.; 41
La Rocca C.; vii; 44; 46; 48; 51; 54; 59
La Sala D.; 37
Lori G.; 54
Macchi E.; 41
Malorni W.; 34
Maranghi F.; 14; 44; 46; 48; 54
Marotta V.; 37
Marraudino M.; 41
Masella R.; 56; 57
Masone S.; 37
Mengozzi A.; 47
Merola C.; 39
Molon G.; 54
Morales M.A.; 59
Morales Suárez-Varela M.; 50
Muratorì F.; 59
Narciso L.; 27; 51; 54
Niaz K.; 39
Oliveri Conti G.; 53
Pala A.P.; 48
Pala AP; 44
Panzica G.; 41
Perugini M.; 39; 51
Pezzolato, M.; 42
Ponti G.; 41
Prosperi M.; 59
Puzziello A.; 37
Raffaelli A.; 44; 48
Ruiz Martinez A.; 56
Russo G.; 37
Santangelo C.; 56; 57
Santocchi E.; 59
Scazzocchio B.; 56; 57
Schilirò T.; 42
Seghieri M.; 47

Silenzi A.; 56; 57
Solini A.; 47
Sturabotti G.; 56; 57
Tait S.; 3; 44; 46; 48; 51; 54; 59
Tassinari R.; 13; 46; 54
Toffol G.; 23

Tulini S.; 51
Varì R.; 56; 57
Varner M.; 54
Zaghi C.; 32
Zezza D.; 39
Zuccarello P.; 53

*Serie ISTISAN Congressi
luglio-settembre 2018 (n.3)*

*Stampato in proprio
Settore Attività Editoriali - Istituto Superiore di Sanità, Roma*