

**EFFETTI DI PESTICIDI SULLO SVILUPPO
PRE- E POST-NATALE: VALUTAZIONE DEI RISCHI
E PROSPETTIVE PER LA RICERCA**

*Con molte indicazioni dai pareri dell'Autorità Europea per la
Sicurezza Alimentare (EFSA)*

Alberto Mantovani

*Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità
pubblica veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*Esperto nei Panel di EFSA dal 2003:
nel PPR Panel (pesticidi): membro del Panel 2012-15, esperto
esterno 2015-17*

alberto.mantovani@iss.it

Area web iss “Interferenti endocrini” <http://www.iss.it/inte>

PARTIAMO DA ALCUNI CAPISALDI

I pesticidi sono sostanze *selezionate per essere efficaci* ed efficaci vuol dire

TOSSICHE (insetticidi, fungicidi, erbicidi, nematocidi...)

***Nella massima parte dei*, questa tossicità si estende anche agli organismi “non bersaglio” (compresi i mammiferi, e quindi anche **noi**)**

Proprio per questo i pesticidi sono le sostanze più controllate e regolamentate

Continuano i CAPISALDI

La ammissione di nuove molecole e la rivalutazione di quelle vecchie si basa un complesso imponente di studi tossicologici definiti da linee guida e criteri di qualità standard

Che vanno *integrati* dai risultati della ricerca indipendente (ove disponibili, spesso **non** lo sono per le **molecole recenti**)

Divieto salvo deroghe che dovrebbero essere rare e temporanee *per sostanze con effetti “altamente preoccupanti”* (mutageni, cancerogeni, tossici per la riproduzione, *quando arriveranno i criteri interferenti endocrini*)

La presenza di **residui** di pesticidi negli alimenti viene valutata con programmi di monitoraggio armonizzati e coordinati (in modo...migliorabile..) a livello europeo.

Importante il documento di valutazione che EFSA produce annualmente (**segnali di possibili rischi da prevenire**)

Quando ricordo questi aspetti negli incontri ISDE, la reazione è
“*QUINDI TUTTO BENE??*”

CALMA.

E'sbagliato dimenticare che (grazie al lavoro di tutti)

- non siamo affatto in un sistema di vuoto di normativa/intervento
- il sistema europeo, nel suo complesso, è il più avanzato (infatti era uno dei punti controversi del TTIP)

MA

1) Anche se andasse tutto bene, occorrerebbe *tenere alta la guardia* = le normative evolute non debbono restare *grida manzoniane* sul territorio

2) *le conoscenze avanzano*

La ricerca e l'attività dell'EFSA evidenziano **nuovi problemi per la valutazione del rischio**

che vanno considerati con approcci scientifici

E gestiti con strumenti normativi

DUE ASPETTI GENERALI

MULTIRESIDUI: il monitoraggio europeo dei residui mostra un **20% almeno di campioni con residui multipli** (da sino a 10 sostanze anche se singolarmente “in regola”)

EFSA (2013): rischio cumulativo = pesticidi che inducono lo **stesso tipo di effetto nello stesso organo/tessuto anche se** hanno struttura chimica e meccanismi molecolari diversi (es. tiroide = interferenza con iodio, inibizione perossidasi, etc.)

EFSA (2017) valutazione dei risultati del monitoraggio europeo: **manca una decisione normativa sul problema dei multiresidui**

QUALI RESIDUI? molti pesticidi si trasformano (ambiente, metabolismo vegetale) in residui diversi dal composto parente.

Attualmente vengono *identificati*, ma manca una strategia coerente per identificare i **metaboliti con tossicità più potente o diversa** (*etilene tiourea*, metabolita del Mancozeb e potente interferente endocrino tireostatico; *Maranghi et al, Food Chem Toxicol, 2013; Medda et al, Environ Res, 2017*).

La strategia è stata proposta a EFSA (2016, *Guidance on the establishment of the residue definition for dietary risk assessment*). **Il legislatore EU?**

E inoltre *NonSoloResidui* **ESPOSIZIONE RESIDENZIALE:**

IL PROBLEMA: Tra gli utilizzatori e i consumatori c'è **chi vive nelle zone agricole** = assessment of exposure of operators, *workers, residents and bystanders* (EFSA 2010, 2014)

CRUCIALE per l'esposizione dei bambini

Residente = chi vive, ha il posto di lavoro o *va a scuola* in prossimità di aree trattate e non ha la possibilità di limitare l'esposizione

Passante = chi ci passa vicino; rispetto all'esposizione a lungo termine del residente, l'esposizione è acuta e intensa (importante ad es., neurotossicità)

Caratteristiche dei soggetti esposti = bambino: minore peso corporeo, maggiore volume respiratorio relativo, maggiore contatto con il suolo (mano-bocca)

Esposizione = volatilità, capacità di diffusione (spray) e persistenza ambientale/suolo, assorbimento cutaneo, uso (quantità/area/durata)

N.B.: Gli studi epidemiologici non-occupazionali disponibili riguardano essenzialmente *l'esposizione residenziale*

E SPECIFICAMENTE PER GLI EFFETTI SULLO SVILUPPO?

Gli effetti “classici” (ad es. teratogeni) sullo sviluppo sono ben coperti dagli studi e dati disponibili

**I nuovi dati indicano la necessità di una considerazione
*coerente e non episodica***

per gli effetti a lungo termine indotti durante lo sviluppo su

- sistema nervoso

- tumorigenesi

- (*aspetto emergente*) il rischio di sindrome metabolica

1) EFFETTI SULLO SVILUPPO DEL SISTEMA NERVOSO

IL PROBLEMA: Molti insetticidi (**organofosforici, carbammati, piretroidi, anche neonicotinoidi**) sono *neurotossici* anche nei mammiferi

Studi di ricerca (anche in vitro) indicano che il sistema nervoso *in via di sviluppo* (feto, bambino piccolo) può essere più vulnerabile

Ad es, Specifica vulnerabilità dei neuroni cerebellari di ratto ai *neonicotinoidi* Acetamiprid (ACE) e Imidacloprid (IMI) (Kimura-Kiroda et al., 2012, uno dei pochi *studi indipendenti* sulla tossicità di ACE e IMI)

(EFSA 2013): Lo studio in vitro fornisce indicazioni per *rivalutare gli effetti osservati* negli studi “standard” che definiscono i **limiti (ADI, ArfD, AOEL)** = i limiti sono **sufficientemente protettivi** verso la neuroossicità dello sviluppo di ACE e IMI ?

(*neonicotinoidi = insetticidi “poco tossici” per i mammiferi*)

No, non sono sufficientemente protettivi verso la neuroossicità dello sviluppo e vanno abbassati

1) **CHE FARE?:**

- il problema potrebbe essere *più esteso*, ad es., nuove molecole che hanno meccanismi potenzialmente rilevanti, ma non dati di ricerca

ma soprattutto

- *Al contrario che negli USA, in Europa non vi è strategia coerente per saggiare gli effetti sullo sviluppo del sistema nervoso (nonostante sia un aspetto fondamentale), si agisce caso per caso, se ci sono indizi*

(test OECD 426 Developmental neurotoxicity)

EFSA-OECD Workshop on integrated approach for testing and assessment of developmental neurotoxicity (2017)

- capitalizzare le conoscenze sullo sviluppo del meccanismo nervoso e sui meccanismi di tossicità *per validare una batteria di test in vitro per*

- **Risposte rapide e predittive** (meccanismi, cellulare bersaglio)

- **Selezione di molecole problema** per le quali occorre la valutazione *in vivo*

- il test OECD 426 va **migliorato e potenziato** (ad es. marker cerebrali neuroendocrini e interazione sociale per interferenti endocrini come il clorpirifos, *Venerosi et al, Env Int, 2015*)

2) PESTICIDI E LEUCEMIE INFANTILI

IL PROBLEMA: meta-analisi commissionata da EFSA (Università di Salonicco, 2014)

Studi epidemiologici (esposizione *residenziale, lavorativa*): associazioni robuste e inequivocabili fra esposizione a “pesticidi” e

Malattia di Parkinson, LEUCEMIA INFANTILE

Problema: **scadente valutazione dell'esposizione** (pochi studi che identificano biomarcatori in rapporto a esiti di salute e **definizioni molto generiche**, tipo “insetticidi”, mentre occorre individuare le “sostanze problema”
Inoltre scarsa attenzione alla **plausibilità biologica** dei risultati

Da questo lavoro è scaturito uno dei documenti più importanti di EFSA
Centrato in primo luogo sul problema “**plausibilità biologica**”

Investigation into experimental toxicological properties of plant protection products having a potential link to Parkinson's disease and childhood leukaemia (2017)

Uso dell'approccio **Adverse Outcome Pathway (AOP, OECD 2013)**:
ammodernamento della (fondamentale) “patogenesi” dei nostri verdi anni

= a) come si instaura una patologia: *catena di eventi* dalla prima lesione molecolare all'effetto a livello clinico

a.1) quindi una alterazione “*a monte*” (livello subcellulare) se inserita nella AOP diventa un *marker predittivo* dell'effetto “*a valle*”

b) quali sostanze chimiche hanno meccanismi che si “*agganciano*” agli eventi della AOP?

Primo risultato: La leucemia infantile in realtà vede *due AOP ben distinte*

- **leucemia infantile p.d.** (più rara, precoce e grave) in cui è cruciale una **alterazione a livello epigenetico** (topoisomerasi II) *in utero*

- **leucemia pediatrica**: l'alterazione molecolare a monte non è ancora definita (probabile confluenza di più), senz'altro traslocazioni/aberrazioni cromosomiche *in utero*,

seguite da una **alterata risposta immunitaria post-natale**

Per ambedue le AOP; bersaglio primario **le cellule emopoietiche staminali**

- Specifici pesticidi *autorizzati* possono agganciarsi a questi meccanismi?
Sì, in particolare il clorpirifos agisce come “**veleno della topisomerasi II**” in vitro nelle cellule bersaglio (Lu et al., Toxicol. Sci, 2015)

- **Ma i pesticidi autorizzati debbono risultare negativi in una batteria di test *in vitro* e *in vivo***

Niente da dire, *ma*: alcuni studi di ricerca mostrano effetti positivi *in vitro* (organofosforici): effetto promotore dell'azione anticolinergica, danno ossidativo al DNA, effetti epigenetici (*Refff nel parere EFSA*)

Quindi...occorrerebbe testare **marker appropriati** in cellule/tessuti vulnerabili (tipo, **fase di differenziazione**)

L'associazione pesticidi-leucemie dei bambini è plausibile

Ma soprattutto: a oggi manca, e quindi va elaborato, un approccio solido per valutare la possibile cancerogenesi transplacentare in cellule/tessuti vulnerabili di sostanze già in uso e (soprattutto) di sostanze nuove

3) PESTICIDI E SINDROME METABOLICA?

Imminente la formalizzazione (*in ritardo, ma è comunque un risultato*) dei criteri per identificare i pesticidi **interferenti endocrini (IE)**

**Ma c'è un importante aspetto tuttora trascurato
il grande assente dal dibattito sugli IE è sinora**

**Il principale singolo gruppo di patologie su base endocrino-metabolica
Il diabete e l'obesità nel quadro della “sindrome metabolica”**

Quali sostanze? Come identificarle?

**Heindel JJ, Blumberg B, Cave M, Machtinger R, Mantovani A, Mendez MA, Nadal A, Palanza P, Panzica G, Sargis R, Vandenberg LN, Saal FV.
*Metabolism Disrupting Chemicals and Metabolic Disorders.***

Reproductive Toxicology 2017

Free text

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089062381630363X>

**Come gli IE (ed altri contaminanti “non ufficialmente” IE come l'arsenico)
vi si agganciano?**

**L'esposizione prenatale può
modificare il bilancio energetico
Promuovere la formazione di tessuto adiposo
modificare la successiva risposta dell'organismo a diete ricche di
grassi/ipoattività**

**Ed inoltre (non trascurare la fase *peri-puberale* = rapidi processi ormono-
regolati in modo sesso-specifico, Fucic & Mantovani, *Reprod Toxicol* 2014)**

**indurre caratteristiche del tessuto adiposo tipiche della SM = **insulino-
resistenza, infiammazione**, anch'esse aggravate dalla dieta successiva
- aumentare il rischio di **steatosi non alcolica**, manifestazione dello stesso
complesso patogenetico**

(segue; reff in Heindel et al. 2017)

Gli effetti dei pesticidi *utilizzati* sembrano concentrarsi in gran parte sulla **aumentata adipogenesi nei pre-adipociti** e, in misura minore, **cellule staminali mesenchimali** (studi in vitro)

Effetto comune a sostanze con meccanismi e bersagli diversi, come *piretroidi* (Shen et al., 2017), *neonicotinoidi* (Sun et al, 2017) e *Fipronil* (Sun et al., 2016)

suggerisce una **finestra di vulnerabilità prenatale**

Ma anche esposizione *post-natale* nei roditori

Fungicidi ed erbicidi possono contribuire alla **steatosi non-alcolica** (Al-Eryani, 2015)

L'atrazina (protipo di un gruppo di erbicidi, le triazine) anche la **insulino-resistenza, esacerbata dalla dieta ricca di grassi**

Quindi,....

Quindi,... (in accordo con Heindel et al., 2017)

le evidenze indicano come sia **necessario (ed urgente)**

elaborare una batteria sperimentale di screening delle sostanze (utilizzate e nuove) in agricoltura

(ad es., validando screening per la interazione con due recettori nucleari decisivi, PPAR-gamma e LXR)

e inserire la sindrome metabolica fra le patologie di interesse per gli studi epidemiologici ambiente-salute, inclusa l'esposizione ai pesticidi

E considerando la dieta non solo come “confondente”

Ma possibile co-fattore che agisce in sinergia con le esposizioni

SVILUPPO SOSTENIBILE = dimensione TEMPO

Soddisfare i bisogni della generazione presente senza compromettere la possibilità della generazione futura di rispondere ai propri

E nell'ambito salute ?

Sicurezza alimentare sostenibile (SAS)

(Frazzoli C, Petrini C, Mantovani A. (2009) Ann Ist Super Sanità 45(1):65-75)=

**specificata attenzione verso i lasciti negativi,
in termini di esposizione della generazione futura**

Prevenzione traslazionale

(dal bancone del ricercatore alla valutazione del rischio)

That's all Folks...