

Centro di Ricerca sul Cancro Cesare Maltoni (CRCCM)



10° edizione
GIORNATE ITALIANE MEDICHE
DELL'AMBIENTE

**Ambiente come
determinante della salute
materno-infantile**

30 Settembre, 2017

**Interferenza endocrina
dei pesticidi: il caso
del glifosato**

**Dott. ssa Fiorella Belpoggi
Direttrice
Area ricerca**

I pesticidi : definizione

- Sostanze che hanno la funzione di **prevenire, diminuire o eliminare** l'azione nociva di insetti, vermi, funghi, erbacce, roditori ed ogni altra forma infestante sulle colture
- **antiparassitari, anticrittogamici, insetticidi, erbicidi, ecc.**



I pesticidi: produzione

- **Fine '800**: fu scoperta per la prima volta l'efficacia dei composti contenenti **arsenico, rame, mercurio e zolfo**, nel controllo delle "pesti"
- **1939**: negli USA, poco meno di **30 pesticidi** erano registrati per uso agricolo quando furono scoperte le **proprietà insetticide del DDT**
- **Anni '80**: negli USA venivano registrati **oltre 1.400 all'anno** principi attivi formulati in circa **50.000 prodotti commerciali**



I pesticidi: produzione

- **Anni '90:** la vendita globale dei pesticidi è rimasta relativamente costante, tra **270 e 300 miliardi di dollari.**
- **L'Europa** è ora il più grande **consumatore** di pesticidi nel mondo, seguito dall' Asia.
- **Cina, Stati Uniti, Francia, Brasile e Giappone** sono i maggiori **produttori** di pesticidi
- **Nei paesi sviluppati** i pesticidi, soprattutto erbicidi, sono per lo più utilizzati per **il mais.**



I pesticidi: consumo

- In Europa l'uso dei pesticidi in agricoltura supera il **1.000.000 di tonnellate all'anno**
- circa **280 grammi per cittadino**
- Si distribuiscono in media **2 kg di diserbanti per ettaro** all'anno
- La media è una sottostima in Italia, perché in **Lombardia** sono **5 kg** per ettaro, in **Piemonte** **4,5**, in **Veneto** **3,5**, in **Emilia** **3**, in **Friuli** **3** ed in **Trentino-Alto Adige** **1,5**.

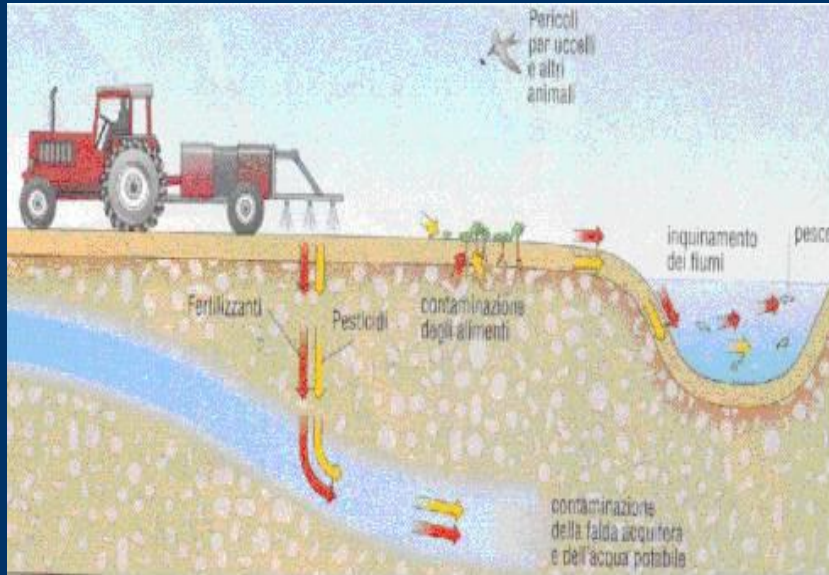


LE VIE DI CONTAMINAZIONE DELLA POPOLAZIONE

- **Rischio professionale:** operai addetti alla produzione, formulazione; trasportatori ed addetti al carico e scarico di pesticidi; agricoltori; operatori ecologici; floricoltori; addetti alla conservazione e manipolazione delle derrate alimentari



I pesticidi: vie di contaminazione delle popolazione



➤ Ambiente di vita generale

➤ Catena alimentare



I pesticídi: consumo

- Più di **300 tipi di pesticidi** contaminano i cibi europei
- Circa **metà del nostro cibo** è contaminato da residui di pesticidi
- Il 25% presenta casi di multiresiduo, arrivando a contenere anche **più di 10 pesticidi in un solo campione** (www.disruptingfood.info/en/consumer-guide)
- Oltre il **5%** dei prodotti alimentari esaminati contiene una concentrazione di pesticidi **superiore ai limiti di legge**



I pesticidi: interferenti endocrini

- Nella normativa vigente **assenza di criteri specifici** atti a definire gli effetti delle **bassissime dosi**
- Scarsi gli studi sugli effetti a basse concentrazioni di prodotto e sull’**“effetto cocktail”** come interferenti endocrini



[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2015.
EN-867/pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2015.EN-867/pdf)

➤ EFSA dopo aver esaminato gli studi disponibili
raccomanda:

*“additional studies to finalise the assessment of the
potential endocrine mediated adverse effects”*(2015)

1 pesticídí EDCs (EU)

Pesticides and Endocrine Disruption

Hormone disruptors unregulated in the marketplace



BEYOND PESTICIDES

701 E Street SE, Washington DC, 20003
202-543-5450/info@beyondpesticides.org
www.beyondpesticides.org

List of known or suspected endocrine disrupting pesticides (Sources: European Union and Our Stolen Future)

Pesticide	Listed by	EPA Review
2,4-D	EU	Yes
Acephate	EU	Yes
Acetochlor	Colborn, EU	No
Alachlor	Colborn, EU	No
Aldicarb	Colborn, EU	Yes
Allethrin	Colborn, EU	Yes
Amitrole	Colborn, EU	No
Atrazine	EU	Yes
Bifenthrin	Colborn, EU	Yes
Carbaryl	Colborn, EU	Yes
Carbofuran	EU	Yes
Chlorpyrifos	Colborn	Yes
Clofentezine	Colborn	No
Cypermethrin	Colborn	Yes
Diazinon	Colborn, EU	Yes
Dicofol	Colborn, EU	Yes
Dimethoate	EU	Yes
Diuron	EU	No
Endosulfan	Colborn, EU	Yes
Fenarimol	Colborn	No
Fenbuconazole	Colborn	No
Fenitrothion	Colborn, EU	No
Fenvalerate	Colborn	Yes
Fipronil	Colborn	No
Hexachlorobenzene	EU	No
Iprodione	Colborn, EU	Yes
Lambda-cyhalothrin	Colborn, EU	No
Lindane	Colborn, EU	No
Linuron	Colborn	Yes
Malathion	Colborn, EU	Yes
Mancozeb	Colborn, EU	No
Maneb	Colborn, EU	No
Methomyl	Colborn, EU	Yes
Methyl bromide	EU	No
Methyl parathion	EU	Yes
Metribuzin	EU	Yes
Pendimethalin	Colborn	No
Pentachloronitrobenzene	Colborn	No
Pentachlorophenol	Colborn, EU	No
Permethrin	Colborn, EU	Yes
Piperonyl butoxide	EU	Yes
Prodiamine	Colborn	No
Propanil	EU	No
Pyrimethanil	Colborn	No
Resmethrin	EU	Yes
Simazine	EU	Yes
Sumithrin	Colborn, EU	No
Thiazopyr	Colborn	No
Thiram	Colborn, EU	No
Triadimefon	Colborn, EU	Yes
Triadimenol	Colborn, EU	No
Trifluralin	Colborn, EU	Yes
Vinclozolin	Colborn, EU	No
Ziram	Colborn, EU	No

Il sistema endocrino

- Il compito delle ghiandole endocrine e':
- **Secernere ormoni.** Gli ormoni sono **messaggeri chimici** che gestiscono ed amministrano gli eventi interni al corpo (come la crescita e lo sviluppo delle cellule)
- **Regolare il funzionamento dei vari organi ed il rapporto fra di essi.**

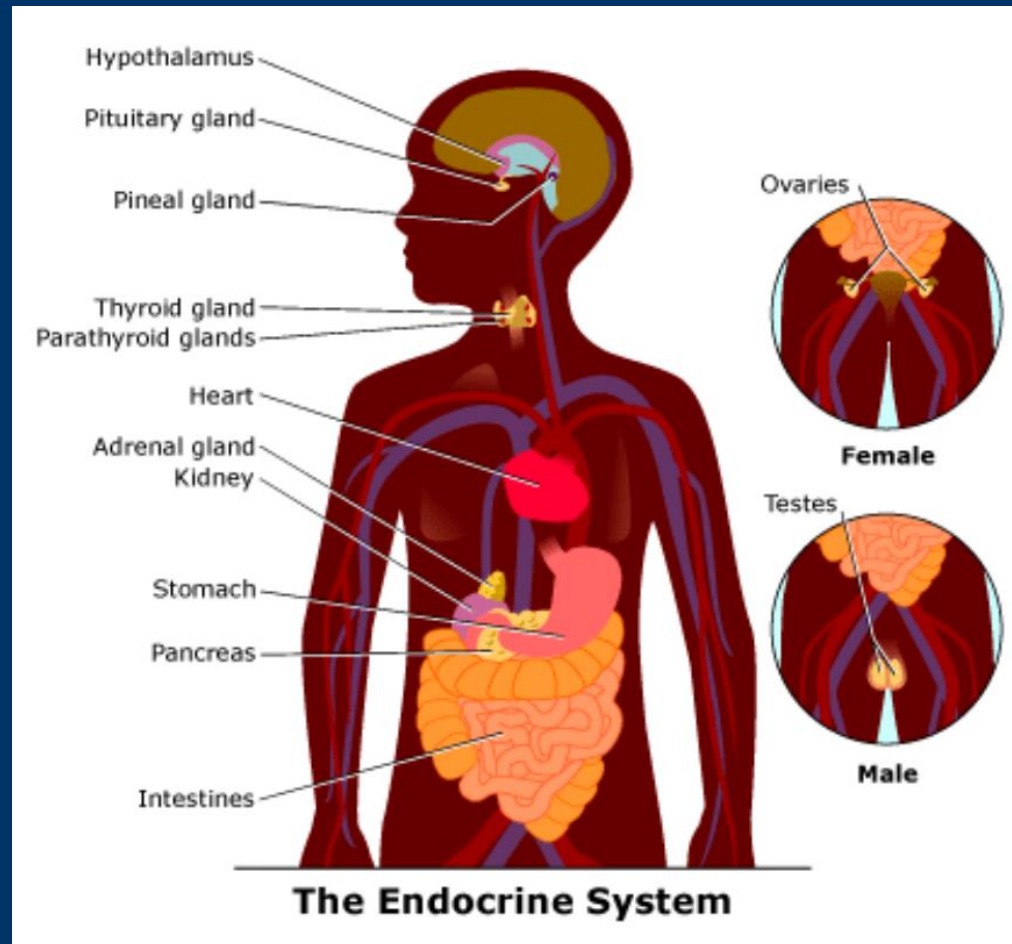


→ Gli ormoni circolano nel sangue e vengono catturati dai recettori presenti nelle cellule. **Ogni ormone agisce come una «chiave», capace di aprire soltanto alcune serrature**

- **Quando l'ormone ed il recettore si incastrano perfettamente,** la cellula riceve un messaggio chimico, un' istruzione, come ad esempio produrre una certa proteina, o moltiplicarsi

Il sistema endocrino

Il sistema endocrino e' una rete di comunicazione molto complessa e sensibile, che influenza tutti gli aspetti principali della nostra salute: **la capacita' riproduttiva, le funzioni cognitive, il metabolismo, la digestione e l'equilibrio ormonale, in altre parole la qualità della vita**



I pesticidi interferenti endocrini

- Gli interferenti endocrini sono composti chimici diffusi nell'ambiente che **mimano l'azione degli ormoni endogeni** dell'organismo;
- **si comportano come segnali biologici**, bloccando i recettori ormonali delle cellule
- Tali sostanze sono in grado di interferire con **la sintesi, il trasporto, il metabolismo e l'escrezione degli ormoni**, alterando la concentrazione degli ormoni naturali

Medicina pratica

L'INIZIO DEI CAMBIAMENTI SESSUALI SEMPRE PIÙ ANTICIPATO. MA I CASI ESTREMI RIMANGONO INTORNO AI 10-20 SU CENTOMILA BAMBINI. PARLANO GLI ESPERTI

Una pubertà troppo precoce

Primi segni di sviluppo a 7-9 anni

di Silvia Baglioni

Gli esami
Ecografia e radiografia

IN CASO di pubertà precoce lo specialista di riferimento è l'endocrinologo pediatrico. Gli accertamenti di prima battuta sono un'ecografia pelvica nelle bambine, per valutare lo stato di sviluppo di utero e ovaie, un radiografia di mano e polso (preferibilmente sinistro) in entrambi i sessi per valutare l'età ossea. Nella lastra comparirà, infatti, l'osso della pubertà, un ossicino detto sesamoide, tra la prima e la seconda falange del pollice. La conferma diagnostica si ottiene grazie a un test di stimolo ormonale (test al GnRH). Questi esami servono anche a distinguere la forma "centrale" (molto più frequente, dovuta all'attivazione dei meccanismi di controllo della pubertà a livello dell'ipotalamo) dalle forme periferiche più rare (attivazione autonoma a livello di ovaie o testicoli). Un trattamento terapeutico è previsto per tutte le forme originate da una patologia neurologica. Altrimenti, il pediatra valuta caso per caso.

«Il problema principale dei bambini con pubertà precoce è quello di una bassa statura da adulti», afferma il pediatra Giuseppe Sarosè

11 anni
è l'età media del primo menarca mentre anni fa era tra i 13 e i 14

Nel disegno, la cascata del processo ormonale che origina la pubertà; dall'ipotalamo, attraverso il neurotrasmettitore Lhrh; all'ipofisi fino alle ovaie e alle gonadi, con l'aumento della produzione delle gonadotropine Lh e Fsh e degli ormoni sessuali (testosterone per i maschi, progesterone per le femmine)

IPOTALAMO
Cervello




Interferenti con azione estrogeno simile

→ **Disordini riproduttivi dei maschi**

- Azospermia
- Aumento dei tumori del testicolo
- Aumento dei casi di ipospadia e ritenzione dei testicoli
- Femminilizzazione del sesso maschile

→ **Disordini riproduttivi nelle femmine**

- Endometriosi
- Alterazioni menarca e ciclo mestruale
- Ovaio policistico

→ **Tumori nelle femmine**

- dell'apparato riproduttivo
- tumori della mammella

il caso del Glifosato



Il caso del Glifosato

GLIFOSATO

- **1971**: segnalato come potenziale erbicida
- Nel 1974 è registrato dall'agenzia per la protezione dell'ambiente americana (U.S. EPA). La registrazione viene completata nel **1993**.
- **Erbicida non-selettivo**
- Si applica alle foglie delle piante per **uccidere sia piante a foglia larga, sia graminacee**
- **Modalità d'azione**: arresta un percorso enzimatico specifico, che si trova solo nelle piante e alcuni microrganismi.



(U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2009)

Il caso Glifosato

- E' uno degli **erbicidi più utilizzati a livello mondiale**
- **USA**: è presente in oltre **750 prodotti dedicati alle coltivazioni intensive** (in particolare quelle **OGM** che ne hanno incorporato la resistenza), agli orti e al giardinaggi
- Nel **2013** produzione mondiale di glifosato ha raggiunto circa **700.000 tonnellate**
- il trend purtroppo nei prossimi anni è destinato a crescere e si stima che **entro il 2020 la richiesta raggiunga il 1 milione di tonnellate**



Il caso del Glifosato

- Il glifosato è incluso nel progetto di **screening degli interferenti endocrini** (US EPA EDSP)
- Studi recenti lo indicano come **interferente endocrino**, così come il Roundup
- La dose alla quale una persona può essere esposta giornalmente senza rischi per la sua salute (ADI) è **1.75 mg/kg/giorno** per gli USA, **0.3 mg/kg/giorno** per l' EU
- Il più alto livello di contaminazione legalmente permesso **nell'acqua potabile** (MCL) è **0.7 mg/L**.



Il caso Glifosato

Quanto sono veramente sicuri i livelli di glifosato considerati sicuri per l'uomo?

- L'industria e le agenzie regolatorie sostengono che noi siamo esposti solo a livelli "sicuri" di glifosato e Roundup
- I livelli stabiliti dalla legge secondo loro **non hanno alcun effetto tossico**
- I livelli di sicurezza attuali – dicono - sono stati identificati con **test di tossicità su animali da laboratorio**
- Le dosi attualmente considerate sicure per l'uomo, negli USA (ADI 1,75mg/kg pc) e in Europa (ADI 0,3mg/kg pc), **non sono mai state testate su animali di laboratorio**
- Sta sempre più consolidandosi la consapevolezza che gli studi finora compiuti su animali di laboratorio (ratto e topo) sul glifosato e il Roundup **non siano adeguati per mettere in evidenza il reale rischio per l'uomo non solo per il cancro, ma per altri disturbi cronici gravi**

STUDIO PILOTA DELL'ISTITUTO RAMAZZINI



- **Via di somministrazione:** le sostanze test sono state somministrate nell'acqua da bere *ad libitum*

GRUPPO	COMPOSTO	DOSE
I	-	CONTROLLO
II	Glifosato	USA ADI (1.75 mg/kg/day)
III	Roundup	USA ADI (1.75 mg/kg/day)

- **Durata del trattamento:**
 - Developmental cohort: dalla vita prenatale (GD6) alla maturazione sessuale (post natal day-PND 70)
 - Toxicity cohort: dalla vita prenatale (GD6) a 90 giorni dalla nascita (PND 120)

RISULTATI PARZIALI



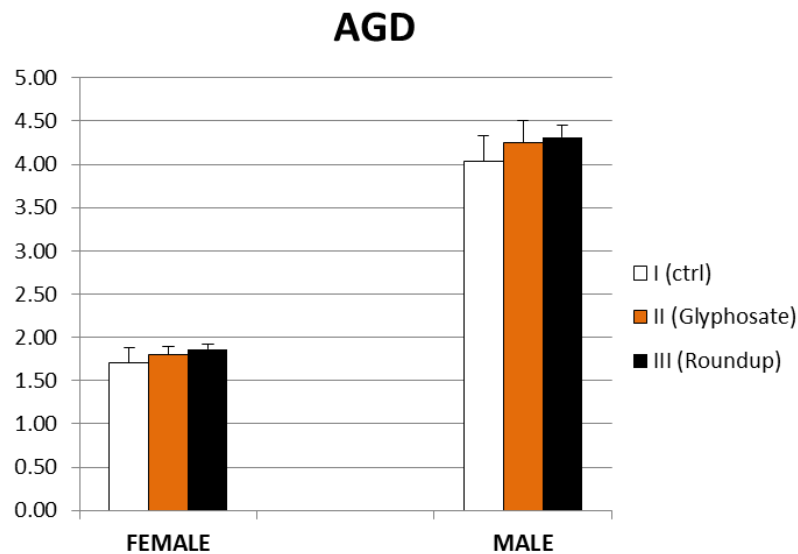
Glyphosate pilot study: preliminary results on different endpoints

Group		Body weight	Water and feed cons.	Litter size	Live birth index	Sex ratio	Intra/extra uterine death	Anogenital distance	Balano-preputial sep.	Vaginal opening	First estrous	Estrous cyclicity	Hormone analyses	Sperm analyses	Sperm aneuploidy	Urinalysis	Clinical chemistry	Haematological tests	Organ weight	Histopathological lesion	Transcriptome	Micronuclei	Microbiome alteration
I (control)	F0	-	-										O						-	-	O		-
	F1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	O	-	-	-	-	-	-	O	-
II (Glyphosate)	F0	-	-				+						O						C*	C*	O		-
	F1	-	-	-	-	C	-	+*	-	-	-	-	O	-	O	-	C*	C*	-	C*	O	-	C*
III (Roundup)	F0	-	-				+						O						C*	C*	O		-
	F1	-	-	-	-	C	-	+*	-	-	+D*	-	O	-	O	-	C*	C*	C*	C*	O	C*	C*

--: no statistically significant differences; +: increasing; C: changes; D: delayed; O: ongoing; * statistically significant

Anogenital distance (AGD)

- AGD was measured on PND 1 using a caliber
- Pup body weight was registered on the same day
- Analysis was performed considering the body weight



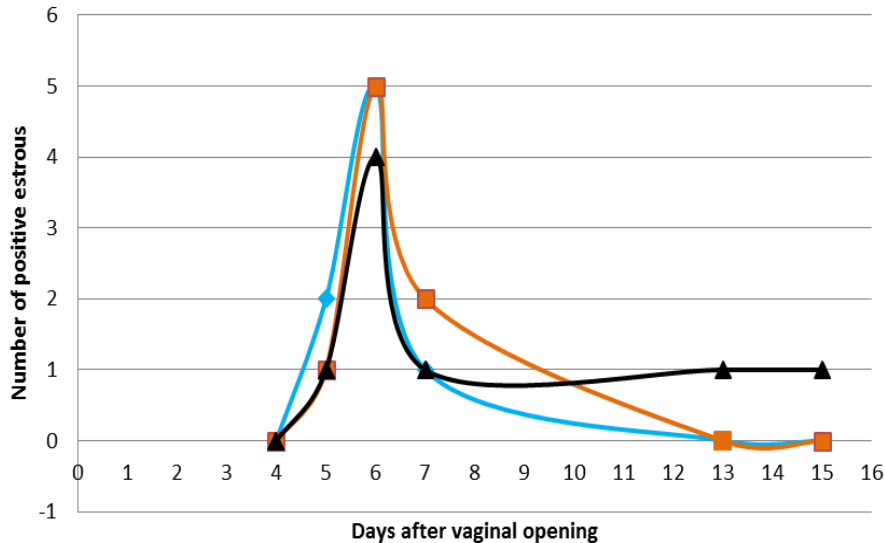
Group	FEMALE		MALE	
	Mean (mm)	sd	Mean (mm)	sd
I (control)	1.701	0.246	4.023	0.487
II (Glyphosate)	1.786	0.211	4.259**	0.379
III (Roundup)	1.861**	0.195	4.337**	0.303

** : statistically significant with $p < 0,01$

First day of estrous

- ✓ Developmental cohort: first day of estrous is determined by vaginal cytology for 14 consecutive days, starting 3 days after the observation of vaginal opening

First day of estrous

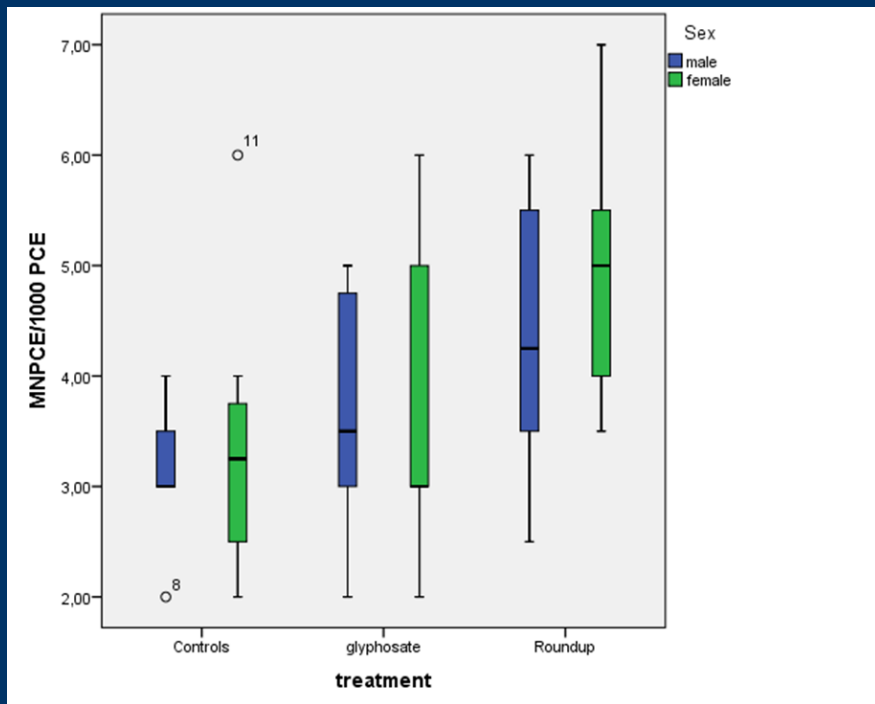


Group	Age at first day of estrous (days)	
	Mean	sd
I (control)	28.9	1.2
II (Glyphosate)	39.4	1.2
III (Roundup)	41.6 *	3.2

*: statistically significant with $p < 0.05$

Micronuclei test (bone marrow): results

- ✓ The micronucleus frequency was determined by analyzing the number of **micro-nucleated polychromatic erythrocytes (MN-PCEs)** from at least 2000 PCEs and expressed as MN-PCEs/1000 PCEs. The PCE:NCE (normochromatic erythrocytes) ratio was calculated to evaluate the cytotoxic effect associated with the treatment by scoring the number of PCEs and NCEs in 2000 cells per animal



At PND 70 (developmental cohort) **a statistically significant increase ($p < 0.001$) of MN-PCEs was observed in Roundup treated animals** (mean MN-PCE/1000 PCEs: 4.66 ± 1.21 vs 3.25 ± 0.98 in controls)

Histopathology : DAMS

Groups	Treatment	Sex (No)	Animals bearing lesions in different organs/tissues									
			Mammary glands		Liver		Intestine		Kidney		Hematopoietic organs	
			N.	%	N.	%	N.	%	N.	%	N.	%
I Control	0 mg/kg	F (8)	0	-	2	25.0	n.c.		3	37.5 ##	n.c.	
II Glyphosate	1.75 mg/kg	F (8)	2	25.0	1	12.5	n.c.		5	62.5	n.c.	
III Roundup glyphosate equivalent	1.75 mg/kg	F (8)	3	37.5	4	50.0	n.c.		8	100.0 *	n.c.	

n.c.: not collected

* Statistically significant $p \leq 0.05$ using Fisher's exact test; ## Statistically significant linear trend $p \leq 0.01$ using Cochran Armitage test

Conclusioni

- Il più frequente commento dell'industria e delle autorità regolatorie sui risultati di studi sperimentali è che gli effetti tossici del glifosato e Roundup osservati negli studi su animali non hanno alcuna importanza per l'uomo, perché **noi siamo esposti solamente a livelli "sicuri"** , che non provocano effetti del genere
- Quindi si afferma che la **ADI (Admitted Daily Intake)** è la stima della quantità di una sostanza introdotta con il cibo o l'acqua da bere, espressa in base alla massa corporea, che **può essere ingerita quotidianamente per tutta la vita** da parte degli esseri umani senza rischi rilevabili per la salute

Conclusioni

- Invece, i nostri dati dimostrano che nella prima fascia di età, cioè dalla vita embrionale fino all'adolescenza (corrispondente all'età equivalente nell'uomo: vita embrionale-18 anni circa), la ADI americana per il glifosato interferisce con alcuni parametri considerati biomarker del normale **sviluppo sessuale, della genotossicità e delle alterazioni della flora batterica intestinale**
- Lo studio di altri parametri importanti, come la trascrittomico per la ghiandola mammaria, rene e fegato, così come lo studio dell'assetto ormonale nel sangue e l'aneuploidia dello sperma, **sono ancora in corso**

Conclusioni

- Insieme ai miei più stretti collaboratori e a tutti i giovani ricercatori che hanno partecipato allo studio pilota, ritengo che i nostri organi istituzionali debbano intervenire per **chiedere all'Europa di autorizzare l'uso del Glifosato per non più di 5 anni** (come ha appena fatto la Francia)
- Fra 5 anni avremo nelle mani i risultati del nostro studio a lungo termine
- Lo studio chiarirà:
 - la sussistenza dei **possibili pericoli per la salute nel primo periodo della vita**
 - se le patologie precoci riscontrate siano correlabili **a lungo termine a patologie gravi come il cancro**
 - dato l'accurato disegno sperimentale, permetterà, anche **in caso di risultati negativi, di sciogliere tutte le incertezze, le discussioni e le polemiche attorno a questo composto così importante per la salute pubblica ma anche per l'industria agricola**

Conclusioni



 **Global Glyphosate Study**
www.glyphosatestudy.org

L'istituto Ramazzini sta lanciando il più sistematico ed integrato studio mai eseguito sul glifosato, l'erbicida più usato al mondo.

Vuoi sapere se il glifosato è sicuro per te e per la tua famiglia? Aiutaci a finanziare la ricerca!

ABBIAMO BISOGNO DEL TUO AIUTO

VAI SUL SITO E DONA PER LA RICERCA INDIPENDENTE

 **Istituto Ramazzini**
COOPERATIVA SOCIALE ONLUS

www.glyphosatestudy.org

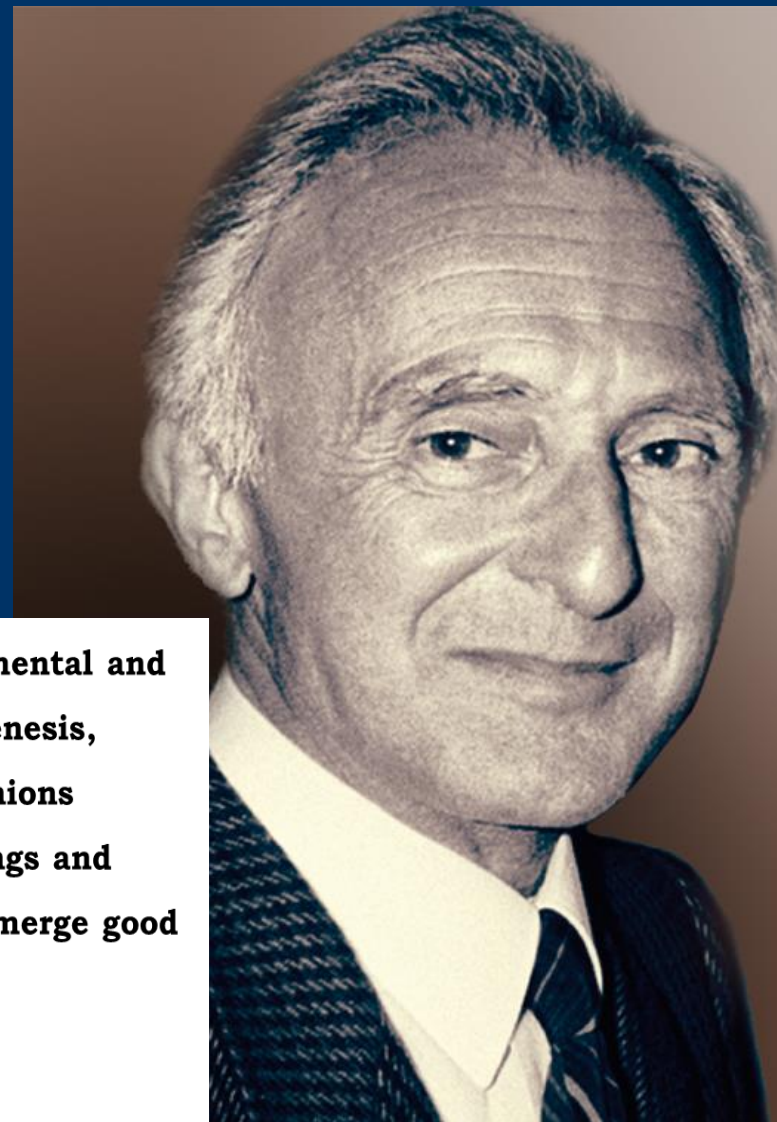
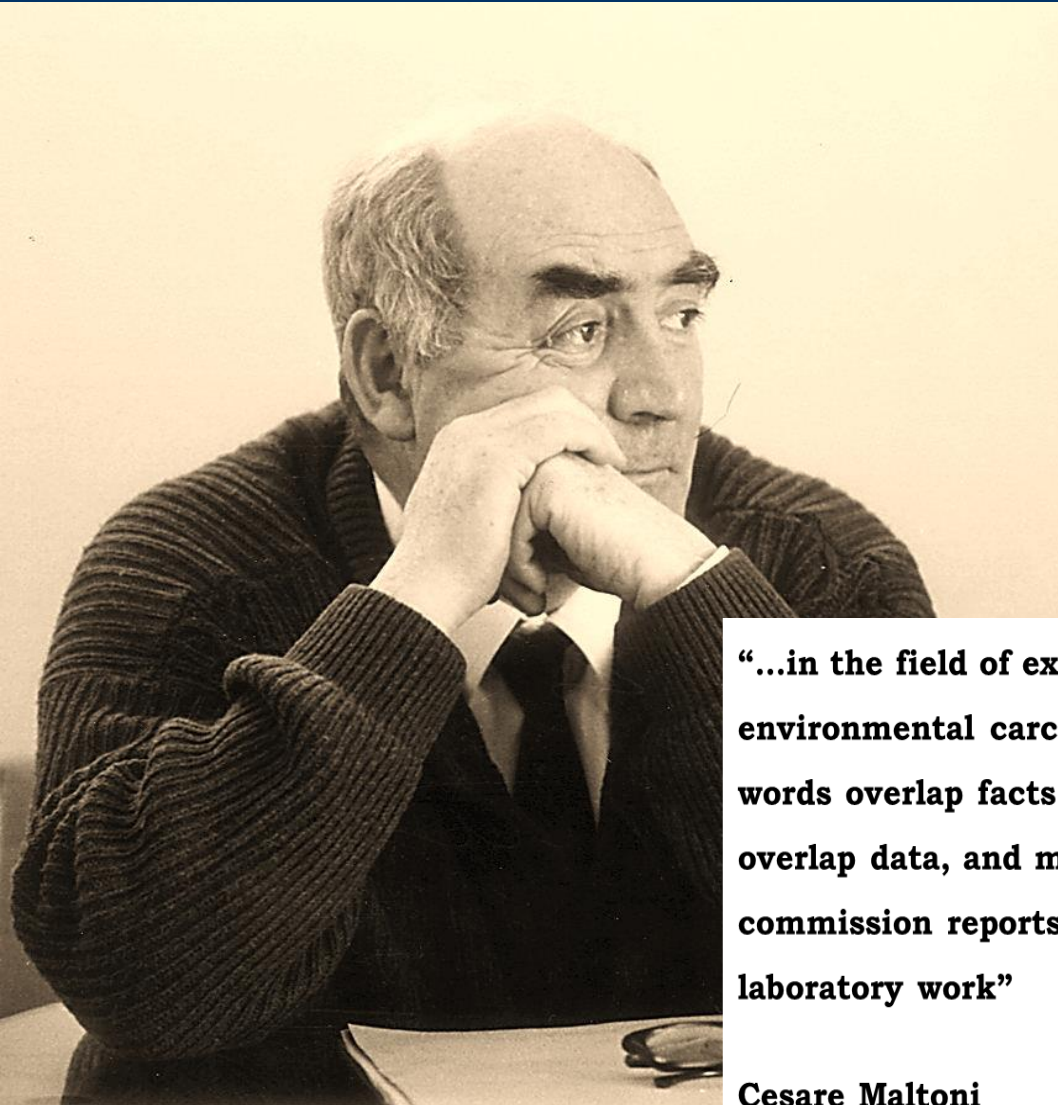
CONCLUSIONI

- L'incertezza scientifica produce solo confusione, dispendio di energie e di denari e nessun beneficio in termini di salute pubblica
- Qualunque sia il risultato dello studio dell'Istituto Ramazzini, le agenzie regolatorie e i policy-makers avranno a disposizione **risultati solidi e indipendenti** su cui basare un'adeguata valutazione del rischio

Conclusioni

- Molti governi e gli scienziati stessi spesso non dimostrano la consapevolezza del legame tra inquinamento ambientale, crisi degli ecosistemi e rischi per la salute dei bambini
- Solo un serio programma di prevenzione primaria, cioè di riduzione degli inquinanti in ambiente, porterà a proteggere i più vulnerabili, ossia i neonati e bambini, dai rischi per la salute

THE "COSTS" OF RESEARCH



"...in the field of experimental and environmental carcinogenesis, words overlap facts, opinions overlap data, and meetings and commission reports submerge good laboratory work"

Cesare Maltoni

A handwritten signature of Cesare Maltoni in blue ink. The signature is stylized and cursive, written on a white background.