

ESPOSIZIONE AGLI FTALATI ED EFFETTI SULLA SALUTE

NEGLI ULTIMI DECENNI È EMERSA UN'ASSOCIAZIONE TRA GLI INTERFERENTI ENDOCRINI E NUMEROSE PATOLOGIE. IL RISCHIO DI ESITI AVVERSI POTREBBE ESSERE STATO AMPIAMENTE SOTTOVALUTATO. GLI FTALATI SONO SOSTANZE UBIQUITARIE, OGGETTO DI STUDIO CON SAGGI DI CITOTOSSICITÀ E TRASFORMAZIONE E ANALISI DEI PROFILI TRASCRIZIONALI.

Le sostanze chimiche che alterano il sistema endocrino sono considerate di assoluta priorità per la salute pubblica e un problema politico emergente per l'approccio strategico alla gestione internazionale dei prodotti chimici. In letteratura sono ampiamente documentati gli effetti avversi correlati all'esposizione a sostanze interferenti endocrine (Edc, *endocrine disrupting chemicals*) come tumori, obesità, malattie cardiovascolari, diabete e problemi riproduttivi. L'esposizione agli Edc avviene attraverso i prodotti di consumo e l'inquinamento ambientale e il rischio per la salute è particolarmente elevato. Fondamentale è la finestra di esposizione a queste sostanze, per le quali i momenti più critici sono rappresentati dal periodo fetale e neonatale, le cui conseguenze possono non essere immediatamente riscontrabili e determinare la comparsa di effetti avversi durante la pubertà e l'età adulta. È, inoltre, documentato che queste sostanze possono indurre modificazioni epigenetiche trasmissibili alle generazioni successive. Gli Edc sono sostanze particolarmente complesse da studiare, infatti l'esposizione non avviene mai a una singola sostanza ma a miscele di queste, confermando ulteriormente l'eterogeneità e l'ubiquitarità di questo gruppo di sostanze chimiche. L'approccio strategico dell'Unione europea nei confronti degli Edc si basa sull'applicazione del principio di precauzione, secondo il quale, l'esposizione a una data sostanza deve essere limitata, laddove siano presenti sospetti di danni potenziali alla salute umana, animale e ambientale, perfino in assenza di certezze scientifiche. Per questo motivo, gli Edc sono disciplinati dal regolamento europeo Reach (*Regolamento per la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche*) all'allegato XIV, in cui vengono identificate le sostanze estremamente preoccupanti e soggette a specifica autorizzazione da parte di Echa, l'agenzia

PRESENTAZIONE DELLA RELATRICE

Gli ftalati sono una serie di sostanze chimiche ampiamente utilizzate che si sono dimostrate essere distruttori endocrini e dannose per la salute umana. Gli ftalati possono essere presenti nella maggior parte dei prodotti che entrano in contatto con la plastica durante la produzione, l'imballaggio o la distribuzione. Nonostante la loro breve emivita nei tessuti, l'esposizione cronica agli ftalati influenzerà negativamente il sistema endocrino e il funzionamento di molti organi, con impatti negativi a lungo termine sul buon esito delle gravidanze, sulla crescita e lo sviluppo dei bambini e sui sistemi riproduttivi sia nei bambini che negli adolescenti. Diversi Paesi hanno stabilito restrizioni e regolamenti su alcuni tipi di ftalati; tuttavia, riteniamo che sempre più Paesi dovrebbero introdurre limiti o misure sostitutive per gli ftalati al fine di ridurre i rischi per la salute. Questo studio si propone di indagare i meccanismi di tossicità correlati all'esposizione a ftalati, nell'intento di identificare marcatori molecolari ed endpoint di risposta cellulare, utili a definire dosi di effetto e dosi soglia per l'uomo.

Annamaria Colacci
Arpa e Università degli studi di Bologna

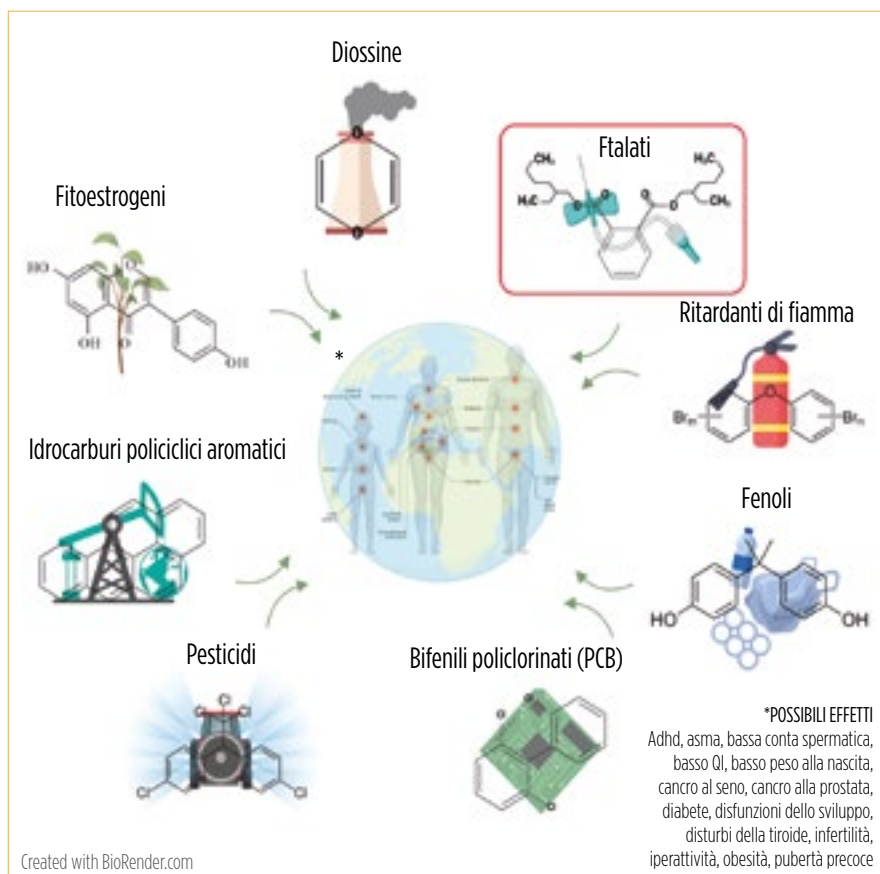


FIG. 1 INTERFERENTI ENDOCRINI

Ue per la regolamentazione dei prodotti chimici.

Tra le sostanze riconosciute interferenti endocrini vi sono gli ftalati, diesteri dell'acido ftalico, composti organici sintetici utilizzati come additivi elasticizzanti delle plastiche (figura 1). Sono milioni le tonnellate di produzione annua di ftalati utilizzati nei più diffusi prodotti commerciali plastici, come nei materiali da costruzione, nei dispositivi medici, nei detergenti e in alcuni prodotti per la cura personale, e da cui possono facilmente disperdersi nell'ambiente, non essendo legati covalente nelle miscele plastiche, in particolare dopo l'uso ripetuto, il riscaldamento e le operazioni di pulizia. L'uso diffuso e la comprovata persistenza degli ftalati hanno portato al loro accumulo nelle matrici ambientali e a un maggiore rischio di esposizione per ingestione, inalazione o contatto cutaneo. Nel corso del tempo, ulteriori indagini hanno rilevato un potenziale tossicologico nell'uomo, portando a regolamentare e ridurre progressivamente l'uso di alcuni ftalati nel mercato Ue, a partire dalla limitazione in giocattoli e prodotti per l'infanzia nel 1999. Nel 2011 il loro uso nel mercato Ue per gli imballaggi e i materiali a contatto con gli alimenti è stato limitato e consentito solo per specifiche categorie di prodotti, con limiti di migrazione specifici. Tra gli ftalati maggiormente diffusi vi sono gli orto-ftalati, come il Dehp (di-2-etilstilftalato), identificato come composto indice per il calcolo della Tdi (*tolerable daily intake*), in quanto possiede il set di dati tossicologici più solido. Il Dehp è un noto Edc, classificato come Cmr (cancerogeno, mutageno e tossico per la riproduzione) di categoria 1 per la tossicità riproduttiva, esistono numerosi studi che lo individuano come composto cancerogeno, neurotossico e immunotossico nei roditori. Il Dehp è stato scelto per questo studio sperimentale in quanto sostanza di particolare interesse attuale che si ipotizza possa indurre cancerogenesi non genotossica attraverso l'attivazione del recettore intracellulare Ppar (*Peroxisome proliferator activated receptors*). Il recettore Ppar regola la trascrizione di una serie di geni coinvolti in molte funzioni fisiologiche, tra cui trasporto e catabolismo degli acidi grassi, metabolismo del glucosio, adipogenesi, termogenesi, trasporto e biosintesi del colesterolo e la risposta antinfiammatoria. È, inoltre, documentata la sua azione nell'alterazione della funzione ovarica, mediante creazione di stress ossidativo ed

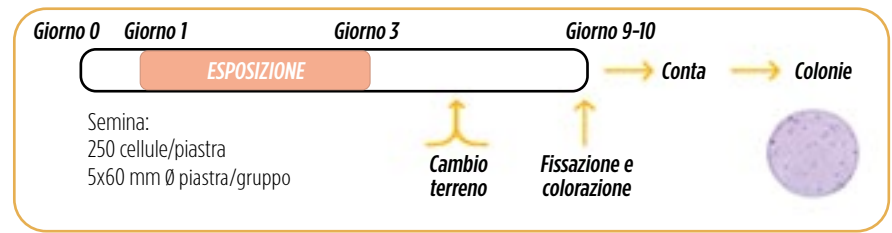


FIG. 2 CITOTOSSICITÀ

Studio di citotossicità, 200 cellule/piastra, 24 ore dopo la semina la linea cellulare Balb/c 3T3 A31-1-1, viene esposta alla sostanza trattamento Deph per 72 ore. Dopo 10 giorni, le cellule vengono fissate con metanolo e colorate con giemsa.

espressione del recettore per gli estrogeni, e nell'indurre la sindrome da disgenesia testicolare con conseguente alterazione delle funzioni dell'apparato genitale maschile.

Viene qui presentato parte di uno studio molto più ampio e complesso, progetto coordinato da Gelsomina Pillo di Arpa, che ha lo scopo di indagare quelli che sono i meccanismi molecolari che sottendono l'azione del Dehp per informare le autorità regolatorie in merito ai possibili effetti avversi correlati alla salute umana e ambientale. Lo studio prevede un test di solubilità della sostanza, un saggio preliminare di citotossicità del Dehp, seguito da un Cta (*cell transformation assay*) con protocollo standardizzato Ecvam, utilizzando una linea cellulare di fibroblasti murini immortalizzati. Il Cta è un metodo proposto per la riduzione dei test di cancerogenesi nell'animale. I risultati del Cta saranno a loro volta utilizzati per stabilire le dosi per esperimenti di trascrittomica al fine di analizzare i profili di risposta trascrizionale indotti dalla sostanza.

In particolare, vengono qui illustrati i dati derivanti da due studi di citotossicità preliminare, che hanno permesso di calcolare il numero di cellule sopravvissute dopo il trattamento con la sostanza in esame (figura 2).

Questo ha permesso di individuare la finestra di concentrazioni con effetto citotossico più interessante, individuata nell'intervallo di concentrazioni 25-100

µg/ml. Le concentrazioni a partire da 50 µg/ml hanno invece indotto una forte riduzione del numero di colonie/piastra, di oltre il 90%. Dati i risultati estremamente interessanti, che presentano un decremento sostanziale dell'efficienza clonale tra 5 e 25 µg/ml si è reso necessario testare nuovamente la sostanza, nell'intervallo tra 2,5 e 20 µg/ml. Si è quindi evidenziato un effetto citotossico statisticamente significativo nell'intervallo di concentrazioni 10-50 µg/ml. La curva di interpolazione ha infine consentito di individuare le concentrazioni inibenti d'effetto (Ic10, Ic50 e Ic90) che forniranno supporto alla scelta delle dosi da utilizzare nel saggio Cta.

Concludendo, in questo studio è stato evidenziato un effetto citotossico concentrazione-dipendente a dosi relativamente basse, tra 6 e 10 µg/ml. L'effetto citotossico riscontrato risulta maggiore rispetto a quanto evidenziato in altri studi su Dehp con la medesima linea cellulare. L'analisi integrata dei dati ottenuti sul Dehp potrà contribuire a fornire supporto scientifico al processo di valutazione del rischio da esposizione a queste sostanze e al processo decisionale per la prevenzione dei rischi per la salute della popolazione esposta.

Ada Mescoli

Alma Mater Institute on Healthy Planet, Università degli studi di Bologna

