

ESPOSIZIONE PRENATALE A INTERFERENTI ENDOCRINI E RISCHIO DI IPOSPADIA NELLA PROLE. STUDIO CASO-CONTROLLO IN DUE OSPEDALI PEDIATRICI DI ROMA

Felice Giordano¹, Annalisa Abballe², Pietro Carbone³, Elena De Felip², Alessandro Di Domenico², Fabio Ferro⁴, Paola Grammatico⁵, Anna Maria Ingelido², Alberto Mantovani⁶, Valentina Marra², Giacinto Marrocco⁷, Silvia Valentini² e Irene Figà-Talamanca¹

¹Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università di Roma "La Sapienza"

²Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, ISS, Roma

³Centro Nazionale Malattie Rare, ISS, Roma

⁴UOC di Chirurgia Andrologica e Ginecologia dell'Età Evolutiva, Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", Roma

⁵Genetica Medica, Università di Roma "La Sapienza", Azienda Ospedaliera "S. Camillo-Forlanini", Roma

⁶Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, ISS, Roma

⁷UOC di Chirurgia Pediatrica, Azienda Ospedaliera "S. Camillo-Forlanini", Roma

Nella comunità scientifica è in corso un acceso dibattito sul ruolo svolto dagli inquinanti ambientali ed alimentari nell'interferenza con il sistema endocrino, noti come interferenti endocrini (IE) (1). Molti di questi inquinanti sono diffusi in aria, acqua e suolo e, contaminando gli alimenti, creano preoccupazioni e allarmi; tuttavia, è generalmente difficile conoscere e valutare i reali effetti sulla salute. Ne sono esempi le recenti vicende della contaminazione della mozzarella campana da diossina, la presenza di ftalati nei contenitori per alimenti e soprattutto la presenza dei pesticidi nei prodotti agricoli.

Due considerazioni importanti includono qual è l'evidenza scientifica sul ruolo nocivo di questi inquinanti per il sistema endocrino umano, soprattutto per l'organismo in via di sviluppo e se esiste un rapporto tra l'esposizione in utero e alterazioni nello sviluppo fetale con danni permanenti sul neonato. Secondo la formulazione dell'"ipotesi estrogenica" da parte dei ricercatori Sharpe e Skakkebaek (2), l'esposizione prenatale ad IE aumenta il rischio per una serie di patologie della riproduzione sempre più frequenti in alcuni Paesi del mondo occidentale. In particolare, ci si riferisce all'anticipo della pubertà nelle femmine, al cancro testicolare, all'ipospadia e al criptorchidismo nei maschi. Le ultime tre patologie, avendo una probabile eziologia comune, sono incluse nella cosiddetta Testicular Dysgenesis Syndrome (TDS) (3).

L'ipotesi è in corso di verifica con studi epidemiologici in vari Paesi del mondo, compresa l'Italia. La patologia più frequentemente studiata, in rapporto alle esposizioni materne ad IE, è l'ipospadia, una malformazione caratterizzata dall'anormale localizzazione dello sbocco del meato uretrale. Questo difetto, che richiede una correzione chirurgica, è tra le più frequenti malformazioni congenite, specialmente in alcuni Paesi occidentali.

Le possibili fonti di esposizione a IE sono l'occupazione dei genitori e la dieta materna in gravidanza, con il consumo di

estrogeni d'origine naturale (fitoestrogeni) o artificiale (pesticidi). I prodotti d'origine animale, come pesce, carne, latte e derivati, possono essere una fonte d'esposizione a composti persistenti che si accumulano nella frazione lipidica dell'alimento (4).

Un contributo decisivo, nel dirimere il dubbio sull'esistenza di un'associazione tra patologie TDS correlate ed esposizione in utero ad IE, si potrebbe ottenere col monitoraggio di xenobiotici persistenti nelle matrici biologiche umane, come dato oggettivo di contaminazione. Essendo l'azione degli IE particolarmente efficace nella vita embrionale, nella fase in cui gli androgeni guidano lo sviluppo dei genitali esterni, i soggetti più indicati da monitorare sono le donne in gravidanza. Tuttavia, la valutazione di una miscela eterogenea di IE (i principali composti clorurati persistenti sono da soli almeno una ventina) nel siero materno, comporta problemi analitici e logistici che rendono questi studi difficoltosi (5, 6).

Nel tentativo di contribuire all'evidenza scientifica, tuttora scarsa, è stato impostato uno studio nella città di Roma, col fine di verificare l'associazione tra la concentrazione nel sangue materno di alcuni contaminanti clorurati persistenti (identificati dalla comunità internazionale come potenziali IE) e il rischio di partorire un bambino ipospadico. Alla ricerca hanno collaborato l'Università di Roma "La Sapienza" (Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo), l'Istituto Superiore di Sanità, l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù e l'Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini.

Il reperimento della casistica è avvenuto tra il 2005 e il 2007 nei due ospedali romani. La metodologia epidemiologica adottata è stata l'indagine caso-controllo ed ha previsto la raccolta di informazioni da 80 famiglie di casi ipospadici e da 80 famiglie di controlli sani, oltre la raccolta di campioni di sangue di madri primipare (37 dai casi e 21 dai controlli). I casi sono bambini (0-24 mesi) affetti da ipospadia, per i quali era indicato il trattamento chirurgico; i

controlli sono bambini (0-24 mesi) sani, che si recavano al servizio vaccinazioni dell'Ospedale Bambino Gesù.

Le informazioni raccolte dai genitori, previa sottoscrizione di un consenso informato, riguardavano lo stile di vita, l'occupazione, lo stato di salute, la storia riproduttiva e l'alimentazione materna. Sulla base dell'occupazione dichiarata dai genitori, si è valutata la presenza sul luogo di lavoro di sette categorie di IE, utilizzando una matrice d'esposizione lavorativa standard, sviluppata appositamente per lo studio di tali xenobiotici (7).

La valutazione della presenza di IE nel siero materno prende in considerazione alcuni specifici contaminanti che, seppur banditi dal commercio da alcuni decenni, continuano a bioaccumularsi negli organismi viventi. In particolare, sono stati dosati il diclorodifenildicloroetilene (DDE), l'esaclorobenzene (HCB) e alcuni tra i congeneri dei policlorobifenili (PCB) a maggiore abbondanza nel corpo umano, i PCB 118, 138, 153, 180. Le analisi dei campioni biologici sono state eseguite dal Reparto di Chimica Tossicologica del Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'ISS. Il calcolo degli *Odds ratio* (OR) per la stima del rischio è stata eseguita con il software SPSS®.

La Tabella presenta i risultati concernenti il ruolo del consumo di alimenti potenzialmente inquinati da IE e occupazione materna con possibili esposizioni a IE.

Si può osservare che un'occupazione che esponga la madre a più di un IE sembra aumentare il rischio di ipospadia nel figlio di più di 5 volte. Anche il consumo di alcuni alimenti in epoca periconcezionale aumenta il rischio per la madre, in maniera statisticamente significativa, di avere un figlio ipospadico. In particolare, il consumo di carne rossa una o più volte al giorno ha la più forte associazione, OR = 10,8 (95% IC 1,2-93,3), seguita dal consumo di uova, OR = 6,2 (95% IC 2,6-14,5) e dal consumo di pesce e molluschi, OR = 2,8 (95% IC 1,2-6,6) una o più volte a settimana. ▶

Tabella - Stima del rischio materno di partorire un figlio ipospadico derivante da esposizioni ad interferenti endocrini, Roma, 2005-2007

Fattore di rischio	Casi n. (%)	Controlli n. (%)	OR aggiustati ^a (IC al 95%)
Alimentazione e occupazione materna			
lavoro materno	0 40 (50,0)	61 (76,3)	1,0
n. di IE ^b	1 26 (32,5)	14 (17,5)	1,9 (0,7-5,1)
	>1 14 (17,5)	5 (6,3)	5,4 (1,5-20,2)
Frequente consumo di			
carne rossa	< 1 volta/dì 70 (87,5)	78 (97,5)	1,0
	≥ 1 volta/dì 10 (12,5)	2 (2,5)	10,8 (1,2-93,3)
uova	< 1 volta/settimana 23 (28,8)	57 (71,3)	1,0
	≥ 1 volta/settimana 57 (71,3)	23 (28,8)	6,2 (2,6-14,5)
pesce/molluschi	< 1 volta/settimana 21 (26,3)	38 (47,5)	1,0
	≥ 1 volta/settimana 59 (73,8)	42 (52,5)	2,8 (1,2-6,6)

(a) Aggiustati per scolarità paterna, presenza di entrambi i genitori all'intervista e peso alla nascita del bambino; (b) interferenti endocrini

Fattore di rischio	Casi n. (%)	Controlli n. (%)	OR aggiustati ^c (IC al 95%)
Contaminati nel siero materno ^d			
DDE ^e	≤ 1,03 16 (43,2)	13 (61,9)	1,0
	> 1,03 21 (56,8)	8 (38,1)	2,2 (0,6-8,4)
HCB ^f	≤ 0,16 14 (37,8)	15 (71,4)	1,0
	> 0,16 23 (62,2)	6 (28,6)	4,6 (1,1-18,6)
PCB ^g			
PCB 118	≤ 0,06 16 (43,2)	13 (61,9)	1,0
	> 0,06 21 (56,8)	8 (38,1)	2,2 (0,6-8,1)
PCB 138	≤ 0,12 18 (48,6)	11 (52,4)	1,0
	> 0,12 19 (51,4)	10 (47,6)	1,7 (0,5-6,3)
PCB 153	≤ 0,28 17 (45,9)	12 (57,1)	1,0
	> 0,28 20 (54,1)	9 (42,9)	2,7 (0,7-10,7)
PCB 180	≤ 0,21 16 (43,2)	13 (61,9)	1,0
	> 0,21 21 (56,8)	8 (38,1)	6,9 (1,3-38,2)
PCB totali	≤ 0,68 17 (45,9)	12 (57,1)	1,0
	> 0,68 20 (54,1)	9 (42,9)	2,7 (0,7-10,7)

(c) Aggiustato per percentuale lipidica e residenza a Roma della madre nel periodo periconcezionale; (d) la mediana delle concentrazioni (ng/g di siero) divide le classi a "basso" e "alto" rischio; (e) diclorodifenildicloroetilene; (f) esaclorobenzene; (g) policlorobifenili

Nella seconda parte della Tabella sono riassunte le stime dei rischi derivanti dalla concentrazione sierica materna degli xenobiotici oggetto di studio. Per tutti gli inquinanti analizzati, il rischio di ipospadia aumenta con l'aumentare della concentrazione. Concentrazioni di HCB sopra il valore mediano (calcolato sul totale dei campioni) risultano associate, in modo particolare, con le madri dei figli ipospadici, OR = 4,6 (95% IC 1,1-18,6). L'associazione è ancora più forte per il PCB 180, OR = 6,9 (95% IC 1,3-38,2).

I risultati preliminari dello studio rafforzano l'ipotesi di un possibile nesso causale tra l'esposizione prenatale a sostanze che interferiscono con il sistema endocrino e il rischio di ipospadia nel neonato. I dati sull'alimentazione materna mostrano un'associazione particolare con il consumo di prodotti animali (carne, uova e pesce) ad elevata concentrazione lipidica, sede d'accumulo di contaminanti lipofili-

ci. Questi risultati e quelli dell'occupazione materna sono suffragati dal dosaggio degli xenobiotici nel siero; d'interesse è il risultato statisticamente significativo dell'HCB, una sostanza già individuata come fattore di rischio per il criptorchidismo e il tumore testicolare (6).

Trattandosi di dati soggettivi, per l'alimentazione e l'occupazione materna, non si può determinare con precisione né la natura né il grado delle esposizioni responsabili dell'aumento di rischio. Tuttavia, il dosaggio degli inquinanti nel siero materno ha evidenziato la presenza di alcuni IE (in particolare HCB e PCB 180), che possono costituire un fattore di rischio per l'ipospadia.

Le implicazioni dal punto di vista della prevenzione sono quelle che tengono conto del principio di precauzione. L'evidenza dello studio, contribuendo a rafforzare l'ipotesi estrogenica, indica la necessità di ridurre il più possibile l'espo-

sizione umana, in particolare durante la gestazione, a sostanze con potenziale azione sul sistema endocrino. Un obiettivo che si può perseguire mirando i controlli negli alimenti agli inquinanti potenzialmente più significativi (ad esempio, PCB 180, HCB) e alle filiere alimentari a maggior rischio. ■

Ringraziamenti

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma - UOC Chirurgia Andrologica e Ginecologia dell'Età Evolutiva (Responsabile: Fabio Ferro); Antonio Spagnoli, Flora Luoni; UO Allergologia (Responsabile: Giovanni Cavagni); Simona Donnanno, Cristina Artesani, Antonietta Sotgiu; **Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini** - UOC Laboratorio di Genetica Medica (Responsabile: Paola Grammatico); Silvia Majore, Francesco Binni; **Università di Roma "La Sapienza"** - Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo: Lucia Orlandi, Simona Rosazza e Cinzia Battaglia.

Riferimenti bibliografici

1. Consultare il sito: <http://www.iss.it/inte>
2. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *The Lancet* 1993;341:1392-5.
3. Sharpe RM. The 'oestrogen hypothesis' - where do we stand now? *Int J Androl* 2003;26(1):2-15.
4. World Health Organization. Environmental Health Criteria 225. Principles for evaluating health risks to reproduction associated with exposure to chemicals; 2001 (disponibile all'indirizzo: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad55.htm>).
5. Longnecker MP, Klebanoff MA, Brock JW, et al. Maternal serum level of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene and risk of cryptorchidism, hypospadias, and polythelia among male offspring. *Am J Epidemiol* 2002;155(4):313-22.
6. Hardell L, Bavel B, Lindstrom G, et al. In utero exposure to persistent organic pollutants in relation to testicular cancer risk. *Int J Androl* 2006;29:228-34.
7. Van Tongeren M, Nieuwenhuijsen MJ, Gardiner K, et al. A job-exposure matrix for potential endocrine-disrupting chemicals developed for a study into the association between maternal occupational exposure and hypospadias. *Ann Occup Hyg* 2002;46(5):465-77.

Comitato editoriale BEN

Nancy Binkin, Paola De Castro,
Carla Faralli, Marina Maggini,
Stefania Salmaso
e-mail: profea@iss.it