



# “I pesticidi”

Atti  
II Sessione  
8e Giornate Italiane Mediche  
dell'Ambiente  
*24-25 Ottobre 2014*

Promosso da  
*ISDE Italia*  
e  
*Ordine dei Medici di Arezzo*



# “I pesticidi”

**Atti**  
**II Sessione**  
**8e Giornate Italiane Mediche dell’Ambiente**  
*24-25 Ottobre 2014*

**Promosso da ISDE Italia e Ordine dei Medici di Arezzo**

Con il patrocinio di

Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile - ENEA, Commissione Nazionale Italiana per l'UNESCO, Federazione Nazionale degli Ordini dei Medici Chirurghi e Odontoiatri - FNOmCeO, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, ISPRA, Ministero della Salute, ASL 8 Arezzo, Comune di Arezzo.

In collaborazione con

Aboca, Associazione Arca Sannita, Associazione di Medici Endocrinologi – AME, Associazione Greencommerce, Associazione Italiana di Oncologia Medica – AIOM, Unione Nazionale Consumatori, Collegio Italiano dei Primari Medici Oncologi Ospedalieri – CIPOMO, Cooperazione per lo Sviluppo dei Paesi Emergenti (COSPE), Coordinamento Agende 21 Locali Italiane, Coordinamento Zero OGM, FederBio, Istituto per lo Studio e la Prevenzione Oncologica – ISPO, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale – ISPRA, Legambiente, Pesticide Action Network – PAN Italia, ReTe dei Comitati per la difesa del territorio, Rete Italiana Città Sane, Società Italiana di Pediatria – SIP

Evento n. 107411

Accreditato per Medici chirurghi, Odontoiatri, Veterinari, Farmacisti, Chimici, Biologi  
Crediti assegnati: n. 12

## INDICE

### **INTRODUZIONE ..... pag. 5**

*Celestino Panizza, Coordinatore gruppo di lavoro ISDE Italia sui pesticidi*

### **USO ED EVOLUZIONE DEI PESTICIDI IN EUROPA E IN ITALIA ..... pag. 10**

*Luigi Campanella, Docente di Chimica dell'ambiente, Dip.to Chimica, Sapienza Università di Roma*

Destino dei Pesticidi  
Evoluzione quantitativa  
Evoluzione qualitativa  
Ai giorni nostri

### **I PESTICIDI: NEURO-TOSSICI, INTERFERENTI ENDOCRINI E PSEUDOMORFOGENI ..... pag. 14**

*Ernesto Burgio, Coordinatore Comitato Scientifico ISDE Italia*

.. La dose non fa il veleno  
Più che la dose è importante il timing: le finestre di esposizione  
Esposizione multipla e sinergismo  
Pubertà precoce femminile, obesità e tumori mammari  
Le patologie del neuro sviluppo e neurodegenerative  
Lancet, 2006: Una "Pandemia Silenziosa"  
Lancet, 2013: "Pandemia Silenziosa" Atto II  
Generazioni future  
Conclusioni

### **CONTAMINAZIONE DELLA CATENA ALIMENTARE ..... pag. 23**

*Giovanni Beghini, Presidente ISDE Verona*

Abstract  
Bioaccumulo e biomagnificazione  
Organi Internazionali e Nazionali Legislativi e di Controllo  
Rassegna di studi  
Studi sull'assorbimento nelle diete intere  
Spunti di criticità

### **ESPOSIZIONE A PESTICIDI E PATOLOGIE CRONICHE NON TUMORALI ..... pag. 36**

*Patrizia Gentilini, Oncologo-Ematologo, ISDE Forlì-Cesena*

Introduzione  
Classificazione delle principali classi di pesticidi  
Caratteristiche dell'esposizione cronica a pesticidi  
Modalità dell'esposizione  
- esposizione professionale  
- esposizione ambientale/residenziale:  
- esposizione attraverso la dieta per presenza di residui negli alimenti o nell'acqua  
Rischi per la salute umana da multiresidui

Principali meccanismi d'azione dell'esposizione cronica a pesticidi

- azione di "interferenti endocrini",
- disfunzione mitocondriale
- stress ossidativo
- stress del reticolo endoplasmatico e unfolded protein response
- degradazione proteica

Patologie croniche non tumorali correlate ad esposizione a pesticidi

Apparato respiratorio

- asma professionale
- bronchite cronica e BPCO

Sistema nervoso

- Morbo di Parkinson
- Morbo di Alzheimer
- Sclerosi laterale amiotrofica

Diabete

Patologie cardiovascolari

Patologie autoimmuni

Patologie renali

Disordini riproduttivi

Malformazioni e difetti di sviluppo

Malattie della tiroide

Conclusioni

## **PESTICIDI E CANCRO .....pag. 66**

*Roberto Magarotto, Oncologo, Dipartimento di Oncologia Ospedale S. Cuore Negrar, Verona*

Premessa

Un po' di storia

Il grande studio americano AHS-Agricultural Health Study

Un altro equivoco da sgombrare

Il caso Martinica

Analizzando i dati del cancro in Veneto

Gli Studi europei confermano

Il dramma dei familiari

Il dilemma dei residenti nelle zone ad alta esposizione

Per concludere: l'esempio virtuoso della Svezia

## **ESPOSIZIONE A PESTICIDI E TUMORI EMOLINFPOIETICI ED INFANTILI ..... pag. 72**

*Lucia Miligi, Unità Operativa di Epidemiologia Ambientale ed Occupazionale, ISPO Istituto per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, Firenze*

Esposizione a pesticidi e neoplasie maligne del sistema emolinfopoietico.

Tumori infantili

Esposizione ambientale a pesticidi

Considerazioni conclusive

**ASSOCIAZIONE MEDICI PER L'AMBIENTE - ISDE ITALIA**

Via della Fioraia, 17/19 - 52100 Arezzo - Tel. +39 0575 22256 - Fax +39 0575 28676 [isde@ats.it](mailto:isde@ats.it) -

[www.isde.it](http://www.isde.it)

Celestino Panizza

Gli esseri umani probabilmente sono da secoli la più importante forza di cambiamento e di distruzione della cosiddetta “biosfera”, la componente biologica del pianeta. La via principale attraverso cui tale forza si esprime è quella dell’inquinamento chimico. Il problema venne per la prima volta segnalato e argomentato in modo scientifico esattamente 52 anni fa dall’ecologa statunitense Rachel Carson, alla quale la presente pubblicazione è dedicata. *Silent Spring* (Primavera silenziosa) – questo il titolo del libro della Carson – può a buon diritto essere ricordato come uno dei saggi scientifici più influenti di tutto il Ventesimo secolo per la ricaduta che ebbe sulla nascita e sullo sviluppo globale dell’ecologia scientifica e del pensiero ecologico tout-court.

I metodi standard dell’agricoltura industriale e intensiva si basano su un modello “fordista” di produzione che richiede consistenti input di energia fossile e impressionanti trattamenti a base di anti-parassitari. In merito a questi ultimi composti, detti anche pesticidi, ci sarebbero molti nodi da chiarire, perché normalmente su di essi circolano informazioni piuttosto vaghe e contraddittorie, talora maggiormente tese a mitigare le preoccupazioni dell’opinione pubblica sulla loro pericolosità che a fornire un quadro attendibile dei reali problemi che essi creano.

Naturalmente, la gamma dei guasti ambientali e di salute pubblica che può essere addebitata ai pesticidi non è completamente nota e molto resta ancora da scoprire. Il punto fondamentale sta nel fatto che quando si parla di attività umane che potrebbero avere effetti importanti sull’ambiente e sulla salute, “la mancanza di evidenza non può costituire in alcun modo evidenza di mancanza”.

La precisazione non è superflua. Com’è noto, infatti, su vari argomenti connessi con la salubrità dei processi e dei prodotti della filiera agro-alimentare, spesso incombe l’equivoco inconsapevole o il travisamento volontario del dato reale, anche per via dell’ormai diffusissimo e popolarissimo “conflitto di interessi”: una condizione in cui si intrecciano interessi pubblici e privati che può essere invisibile o difficilmente dimostrabile, ma che spesso può coinvolgere varie figure tecniche e/o politiche implicate nei processi decisionali e autorizzativi con risultati che vanno quasi sempre a discapito dell’interesse collettivo e dei beni comuni.

Attualmente, agricoltura e agro-industria hanno un impatto molto importante sull’ambiente e sulla salute. Anche in termini energetici, esse richiedono input di combustibili fossili e di additivi chimici talmente alti che il bilancio complessivo, in termini di quanto si recupera sotto forma di energia alimentare, è il più delle volte negativo. Una “politica del territorio” come principio-guida per tutelare suoli, falde, corpi idrici, biodiversità, qualità dei prodotti agricoli e salute umana appare ormai una scelta irrinunciabile.

In questo contesto, i pesticidi occupano una posizione molto particolare fra le numerose sostanze chimiche cui l’uomo è esposto, poiché essi vengono deliberatamente sparsi rilasciati nell’ambiente con l’intento di eliminare alcune forme di vita. Il pesticida ideale dovrebbe essere estremamente tossico per la specie che si desidera eliminare e innocuo per l’uomo e per gli altri organismi. Purtroppo pochissimi pesticidi sono così selettivi. Questo fatto fa sì che essi divengano un rischio per gli equilibri ecologici, per le matrici ambientali e dunque anche per la salute umana, soprattutto in quei paesi dove i controlli e le attività di sorveglianza non sono molto sviluppati.

Inoltre molti di questi composti sono bio-persistenti: 15 sono inclusi nella convenzione di Stoccolma (1) sui POPs (Persistent Organic Pollutants). Emblematico il caso del DDT, bandito nei paesi occidentali fin dagli anni ’70 ma che si ritrova ancora nel latte materno di molte popolazioni umane o e in molti ecosistemi acquatici come i nostri laghi subalpini, ove le concertazioni tendono ad aumentare per effetto dello scioglimento dei ghiacciai.

Nel mondo l’impiego di pesticidi erbicidi, cosiddetti prodotti fitosanitari, prodotti fitosanitari per uso agricolo è massiccio. In Italia nel 2012 ne sono state usate 134.241 mila tonnellate e si distribuisce il 39% di fungicidi, il 10% di erbicidi il 36% di insetticidi e il 37% di altri pesticidi nell’intero territorio comunitario (fonte Eurostat riferita all’anno 2005) e sono 800 i prodotti presenti sul mercato. Il quantitativo medio distribuito è di 5,64 chilogrammi per ettaro e l’uso interessa circa il 70% della superficie agricola utilizzata, pari a circa 13.000.000 ettari. Sience (2) colloca l’Italia fra i maggiori utilizzatori di pesticidi ed erbicidi per ettaro nel mondo.

In questo quadro il dato preoccupante è che i prodotti tossici e molto tossici distribuiti in agricoltura sono aumentati del 57% e quelli nocivi del 6,2%.

Se questo è il quadro di riferimento, allora la difesa della salute, della diversità biologica e del paesaggio, e la prospettiva della riqualificazione del territorio impongono un ripensamento radicale del rapporto tra l'uomo e il proprio ambiente. Gli agricoltori avranno un ruolo cruciale in questo processo, ma al tempo stesso le strategie che governano le politiche alimentari dovranno essere profondamente riformate, mettendo al centro nuove relazioni tra mercato alimentare, risorse naturali e sistemi produttivi.

L'esposizione ai pesticidi interessa non soltanto gli agricoltori che sono il gruppo di lavoratori esposti ma coinvolge la tutta la popolazione poiché tali composti si possono trovare in tutte le matrici ambientali. Di fatto essi contaminano la catena alimentare attraverso i prodotti dell'agricoltura, l'acqua oppure per esposizione residenziale di prossimità dei luoghi dove vengono impiegati(3); e anche i suoli, naturalmente, possono presentare forte contaminazione da pesticidi.

L'EFSA (l'Agenzia per la Sicurezza Alimentare Europea) nel 2008 ha riscontrato(4) che il 2,2% dei campioni hanno concentrazioni di alcuni dei 78 pesticidi ricercati superiore al massimo livello consentito (MRL), ma soprattutto essi sono rintracciabili nel 35,7% dei casi, sia pure al di sotto del livello consentito. A livello europeo, nel 28% di campioni analizzati viene rilevata la presenza di più di un pesticida e questa quota aumenta negli anni. Anche in 76 casi di prodotti alimentari per bambini sui 2.063 analizzati è stata riscontrata presenza di pesticidi e in 4 casi la concentrazione era superiore alla MRL.

Per quanto riguarda le acque, il monitoraggio nazionale dei pesticidi (dati 2007-2008) dell'ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale) ha raccolto 19.201 campioni in 19 regioni italiane e cercato 300 principi attivi (5). Nelle acque superficiali sono stati rilevati residui di pesticidi in 518 punti di monitoraggio, che rappresentano il 47,9% del totale dei campioni analizzati, nel 31,7% dei casi con concentrazioni superiori ai limiti di legge previsti per le acque potabili.

Nelle acque sotterranee sono risultati contaminati 556 punti di monitoraggio, che rappresentano il 27,0% del totale dei campioni, nel 15,5% dei casi con concentrazioni superiori ai limiti di legge. Le sostanze rilevate complessivamente sono 118, con una presenza maggiore nelle acque superficiali dove ne sono state trovate 95, mentre in quelle sotterranee ne sono state rinvenute 70. Tutte le tipologie di sostanze sono presenti nelle acque, ma sono gli erbicidi e i relativi metaboliti le sostanze più largamente rinvenute (86,7% delle 6.503 misure positive totali sono infatti erbicidi). Questo fatto si spiega sia con le modalità di utilizzo degli erbicidi, che può avvenire direttamente al suolo, sia con il periodo dei trattamenti, in genere concomitante con le precipitazioni meteoriche più intense, con il conseguente ruscellamento e l'infiltrazione che determinano il rapido trasporto ai corpi idrici.

I dati del biennio confermano uno stato di contaminazione già rilevato negli anni precedenti.

Il rapporto sottolinea anche che il numero massimo di sostanze rinvenute in un singolo campione è 14, sia nelle acque superficiali sia in quelle sotterranee, il che ribadisce l'importanza di considerare i possibili effetti cumulativi delle miscele ribadita sia nei consessi scientifici sia in quelli regolatori. Si segnala ancora, inoltre, la presenza diffusa in tutta l'area padano-veneta di atrazina, sostanza fuori commercio da circa due decenni.

E' evidente da qui l'impatto sanitario che l'agricoltura ha sull'ambiente e quindi sulla salute.

La letteratura scientifica fornisce numerose evidenze che i pesticidi provocano svariati e gravi effetti negativi sulla salute umana, innanzitutto nei lavoratori agricoli (6, 7, 8). Questo aspetto è molto importante nell'indagine sui rischi generati dai pesticidi, in quanto la conoscenza degli effetti delle esposizioni a contaminanti chimici in ambito occupazionale può anticipare il quadro degli effetti sulla popolazione generale, anche se le dosi alle quali i lavoratori sono esposti sono di gran lunga superiori a quelle della popolazione generale. Resta il fatto che gli studi epidemiologici sui lavoratori presentano il grande vantaggio metodologico che è più semplice individuare il gruppo esposto da confrontare con gruppi di controllo.

Nel caso dei pesticidi, comunque, le indagini sono di particolare complessità in quanto dovrebbero tener conto di questi aspetti:

- il grande numero di molecole in gioco,

- l'enorme numero di formulati (si stimano 80.000 formulati in commercio in tutto il mondo) che almeno in alcuni casi aumentano la potenza tossicologica delle molecole,
- gli effetti a lungo termine a basse dosi (9),
- gli effetti nelle fasi precoci della vita che negli studi occupazionali sono raramente considerati,
- gli effetti delle esposizioni parentali in epoca pre concepimento (10, 11, 12).

Emergono crescenti evidenze che la popolazione generale non professionalmente esposta, soprattutto le donne in gravidanza e i bambini rappresentano i target più sensibili: l'esposizione in epoca gestazionale a pesticidi è associata all'insorgenza di disturbi psichiatrici e autismo (13) e altre patologie degenerative. In uno studio condotto su 415 bambini autistici i figli di madri che durante la gestazione, nella finestra dello sviluppo cerebrale, avevano abitato entro 500 metri da campi trattati con pesticidi organoclorurati, avevano un rischio molto elevato di sviluppare disturbi di tipo autistico.

Recentemente (14) è stata richiamata l'attenzione sull'insufficiente efficacia del monitoraggio dei pesticidi che hanno un impatto sul sistema endocrino: 14 pesticidi testati che erano sospettati di avere capacità di interferire con i recettori degli ormoni maschili si sono confermati tali, ma altri 9 non testati precedentemente hanno dimostrato avere tale capacità. I pesticidi sono chiamati in causa come uno dei fattori di riduzione della fertilità maschile che oggi rappresenta un serio problema sanitario poiché in forte declino.

Il dibattito pubblico e la consapevolezza e l'azione delle istituzioni sembrano ancora lontani dall'affrontare il rischio per la salute umana generato dai pesticidi, soprattutto nella prospettiva di mettere in campo concrete azioni di prevenzione.

Il tema della sicurezza dei pesticidi riguarda la corretta applicazione del Principio di Precauzione anche in considerazione del fatto che al loro uso implica la contaminazione diffusa delle matrici ambientali, della catena alimentare e quindi della popolazione umana in generale. Questo punto rimanda al ruolo delle agenzie regolatrici, in primis l'EFSA – spesso accusata di non adempiere pienamente al proprio ufficio - a perseguire il mandato istituzionale che le è stato conferito dai cittadini europei attenendosi unicamente a valutazioni scientifiche indipendenti (15). L'Agenzia infatti opera per garantire la sicurezza alimentare nei paesi dell'Unione e non per tutelare gli interessi dell'industria e dei gruppi di pressione.

#### Bibliografia

- 1) Stockholm convention on persistent organic pollutants. 2001 - [http://chm.pops.int/Portals/0/Repository/convention\\_text/UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-FULL.English.PDF](http://chm.pops.int/Portals/0/Repository/convention_text/UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-FULL.English.PDF)
- 2) Science vol 341 – 16 August 2013 – www .sciencemag.org . Accesso 16.10.2013
- 3) Ward M.H, Proximity to Crops and Residential Exposure to Agricultural Herbicides in Iowa – Env.Health Persp. 114, 6; 2006.
- 4) SCIENTIFIC REPORT OF EFSA 2008 Annual Report on Pesticide Residues according to Article 32 of Regulation (EC) No 396/2005 European Food Safety Authority.
- 5) ISPRA, rapporto 114/2010
- 6) Bassil KL, et al., Cancer health effects of pesticides: systematic review. Can Fam Physician. 53, 10; 2007.
- 7) Blair A. et al., Epidemiologic Studies in Agricultural Populations: Observations and Future Directions, J. Of Agromed. 14, 2009.
- 8) Weichenthal S. et al., A Review of Pesticide Exposure and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study Cohort; EHP 118,8; 2010.
- 9) Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR Jr et al. (2012) Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. Endocr Rev 33:378-455.
- 10) Balbus JM, Barouki R, Birnbaum LS, et al, 2013, Early-life prevention of non-communicable diseases, Lancet, 381, pp. 3–4.
- 11) Sharpe CR et al., Parental exposures to pesticides and risk of Wilms' tumor in Brazil. Am J Epidemiol; 141:2, 1995.
- 12) Vinson F. et al., Exposure to pesticide and risk of childhood cancer: a meta-analysis of recent epidemiological studies. Occup.Env.Med; 1:68, 2011.
- 13) Shelton J.F., et al., Tipping the Balance of Autism Risk: Potential Mechanisms Linking Pesticides and Autism; Env.Health Persp.; 120:7, 2012.
- 14) Orton F. Widely Used Pesticides with Previously Unknown Endocrine Activity Revealed as in Vitro Antiandrogens ; Env Health Prsp.; 117:6 2011.
- 15) Robinson C, et al. - Conflicts of interest at the European Food Safety Authority erode public confidence - J Epidemiol Community Health Month 2013.





Luigi Campanella

La Commissione della Comunità Europea tra il 2005 ed il 2006 ha adottato 7 strategie tematiche che affrontano questioni ambientali e che vogliono essere gli strumenti principali di un programma di azione. Fra queste strategie (qualità dell'aria, ambiente marino, uso sostenibile delle risorse, prevenzione e riciclaggio dei rifiuti, qualità del suolo, ambiente urbano) si colloca anche l'uso sostenibile dei pesticidi. L'UE oltre ad impegnarsi per tutelare i consumatori e gli animali dai residui dei pesticidi negli alimenti e nei mangimi cerca di ridurre l'impatto globale dei pesticidi su salute ed ambiente.

La strategia si prefigge di incoraggiare le coltivazioni naturali o a basso uso di pesticidi e di avanzare – come è poi stato fatto – proposte giuridiche riguardanti la commercializzazione e l'uso sostenibile dei pesticidi, migliorando qualità ed efficacia delle attrezzature di applicazione, garantendo un'adeguata formazione degli addetti e degli utenti, sviluppando sistemi di lotta integrata contro i parassiti. Sostituendo i pesticidi più tossici con alternative più sicure, istituendo infine un sistema trasparente di comunicazione e monitoraggio dei progressi ottenuti nel conseguimento degli obiettivi della strategia.

Il termine pesticidi spesso usato come sinonimo di prodotti fitosanitari indica i prodotti principalmente usati in agricoltura per proteggere le colture ed impedire che vengano distrutte da malattie ed infestazioni che si è calcolato siano responsabili di perdite fino al 30% nei Paesi sviluppati e fino ed oltre il 40% nel caso dei Paesi del Terzo Mondo. C'è poi un altro aspetto da considerare relativo alla conservazione degli alimenti necessaria per poterli consumare in tempi e luoghi diversi da quelli di produzione. E' questa un'esigenza che, se non ha interessato i primi esseri umani che consumavano immediatamente il cibo faticosamente conquistato, ha certamente interessato e drammaticamente le generazioni successive. Uno dei principali metodi di conservazione per garantire tutte le caratteristiche qualitative dell'alimento (chimiche, fisiche, biologiche, organolettiche) accanto alla refrigerazione, al congelamento, al surgelamento, alla pastorizzazione, alla sterilizzazione, all'affumicamento, all'essiccamento, alla liofilizzazione, è certamente la conservazione in campo che si esercita per l'appunto con l'uso dei pesticidi.

### **Destino dei Pesticidi**

Le principali proprietà per valutare il destino di una sostanza nell'ambiente sono il coefficiente di assorbimento del terreno e la relativa costante riferita all'unità di % di carbonio organico, le costanti di distribuzione acqua/aria ed ottanolo/acqua, il fattore di bioconcentrazione, la stabilità termodinamica e condizionale. Sulla base di tale valutazione i composti testati vengono classificati come non persistenti (fino a 12 settimane), moderatamente persistenti (fino a 18 mesi), persistenti (2-6 anni ed oltre).

Per quanto riguarda in particolare il comparto acque nel 2003 nasce nell'ambito della regolamentazione nazionale sull'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari (decreto legislativo 194/95, in attuazione della Direttiva 91/414/CEE, ad oggi abrogata dal Regolamento CE n. 1107/2009) il monitoraggio dei pesticidi a livello nazionale. Negli anni di monitoraggio finora svolti si è registrato un progressivo incremento della copertura territoriale e della significatività delle indagini. Permangono ancora sensibili differenze fra le regioni per copertura delle aree monitorate e frequenza di campionamento, il che non rende completamente rappresentativo il quadro nazionale che ne deriva. Comunque a detenere il primato di zona più contaminata è la pianura padano-veneta, soprattutto a causa delle caratteristiche idrologiche dell'area e del suo intenso utilizzo agricolo.

### **Evoluzione quantitativa**

Le tipologie di prodotti fitosanitari presenti nelle acque superficiali e sotterranee sono 166 contro le 118 del 2008. I residui di pesticidi sono stati ritrovati secondo gli ultimi dati in oltre il 56% dei campioni superficiali ed il 28% dei campioni sotterranei. I residui sono contenuti non solo nei prodotti fitosanitari usati in agricoltura (di cui si contano circa 350 sostanze diverse per un quantitativo superiore alle 140 mila tonnellate), ma anche nei biocidi, ossia pesticidi per uso non agricolo.

In un solo campione sono state individuate fino a 34 specie diverse, da cui la possibilità di rischio integrato da esposizione addittiva che potrebbe comportare pericoli ed effetti nocivi anche a concentrazioni di sicurezza della singola sostanza pesticida. Purtroppo i metodi integrali di valutazione sono in fase di ufficializzazione, al contrario dei differenziali oggi affidati alla cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa. La sensoristica sta facendo importanti passi verso la possibilità di un monitoraggio on line ed automatizzato dei pesticidi, soprattutto nel caso degli organofosforici, tenuto conto delle loro capacità di inibizione degli enzimi colinesterasici.

### **Evoluzione qualitativa**

Nel 1990 Bruce Ames, inventore di un metodo di valutazione della tossicità delle sostanze, scriveva: "La metà di tutte le sostanze chimiche, siano naturali o sintetiche sono positive ai test di cancerogenicità condotte con alte dosi sui ratti. L'esposizione dell'uomo ai cancerogeni (per i roditori) naturali è così diffusa da rendere senza importanza l'esposizione ai cancerogeni di sintesi" ed aggiungeva che il 99% dei pesticidi sono naturali e che le piante sotto stress producono un gran numero di sostanze tossiche ed in quantità così elevata da potere provocare tossicità acuta nell'uomo. Il risultato di questa situazione si ha in un altro dato disponibile: la media degli Americani ingerisce da 5 mila a 10 mila differenti pesticidi naturali con una quantità totale giornaliera circa 1000 volte superiore a quella dei pesticidi di sintesi. Per ricordare alcuni dei composti naturali più pericolosi basta riferirsi alle aflatoxine presenti nei prodotti naturalmente ammuffiti da certe specie di muffe e considerate fra i più potenti cancerogeni. Ed ancora la dieta normale contiene composti chimici naturali provvisti di un'attività estrogenica milioni di volte superiore a quella delle sostanze estrogeniche di sintesi. Alcuni altri dati a conferma di quanto detto: i PCB, il DDT, il Dieldrin hanno dosi letali comprese fra 3,7 e 96 g/persona, la saccarina- primo dolcificante di sintesi- 140 g/persona, contro gli 0,2 mg di alcuni veleni di serpente e della aflatoxina e addirittura 0,057 microgrammi/persona da batterio responsabile del tetano. Per curiosità è stata valutata anche la cancerogenicità dell'acqua: la dose cancerogena è risultata pari a 162 Kg/Kg peso corporeo.

Il primo passaggio dai pesticidi naturali a quelli di sintesi risale alla seconda metà del '900 ed ha permesso il raggiungimento di ingenti rese produttive, tali da sostenere il trend progressivamente crescente della popolazione mondiale. Purtroppo è mancata quella visione ecosistemica che doveva prevenire, nell'uso di preziosi coadiuvanti, il loro abuso. Si tratta di sostanze xenobiotiche (estrane ai processi biologici) introdotte nei comparti ambientali in modo sistematico e massivo, spesso ignorandone gli effetti a carico di organismi non ritenuti potenziali bersagli dei fitofarmaci e la diffusione in aree lontane dai siti di immissione. L'utilizzo di una molecola di sintesi, quindi che non è il prodotto di un'evoluzione biologica, il che ne garantirebbe l'ecocompatibilità con gli equilibri biosferici, meriterebbe una valutazione eccezionalmente prudente della tossicità, stabilità, accumulabilità, capacità di migrazione da un comparto ambientale all'altro e dai potenziali siti di concentrazione nei comparti stessi, che possono costituire delle aree a rischio proprio per un elevato accumulo dello xenobiotico.

I fitofarmaci possono essere assorbiti per inalazione, per contatto cutaneo o attraverso l'apparato digerente. Sulla base della tossicità acuta vengono catalogati in quattro classi tossicologiche, dalla prima che comprende le sostanze il cui uso può causare un'intossicazione mortale alle altre scendendo fino all'intossicazione lieve ed a rischi trascurabili. Gli effetti possono essere di tossicità acuta o cronica. Gli studi per la prima si riferiscono all'ingestione, all'assorbimento cutaneo, all'inalazione, alla neuropatia, all'inibizione enzimatica; per la seconda agli studi di cancerogenesi, di mutagenesi, di fertilità, di teratogenesi. Gli indici di un composto che lo associano ad un livello di rischio per un soggetto esposto sono il NOEL/DSET (dose sprovvista di effetti tossici), il DGA/ASI (dose giornaliera accettabile), il Limite teorico tossicologico ammissibile ed il Residuo massimo legale.

La Convenzione di Stoccolma adottata a maggio 2001 vieta la produzione, l'uso ed il rilascio delle sostanze chimiche pericolose conosciute come POP (persistent organic pollutants) ed individua una prima lista di POP comprendente 12 sostanze o classi di sostanze tossiche fra le quali alcuni insetticidi di sintesi (dieldrin, DDT, toxofene, clordano) prevedendone la graduale eliminazione.

Questi ricadono in una delle classi chimiche dei pesticidi di sintesi quella degli alogenoderivati organici. Ma la sintesi di pesticidi si è sviluppata anche in altre direzioni: derivati azotoorganici, derivati organofosforici, carbammati. Estremamente rappresentativo di un altro tipo di processo basato sulla

combinazione di composti naturali con composti di sintesi è quanto è avvenuto ai composti naturali denominati piretrine, esteri estratti da alcune piante e potenzialmente attivi come insetticidi. Questi composti naturali, però, sono estremamente fotolabili e termolabili. A partire dalla molecola originaria, l'industria chimica ha prodotto una evoluzione di questi insetticidi: aggiungendo prima alogeni (Cl, Br) (Barthin), poi sostituendo l'anello furinico della parte alcolica con un secondo benzene (Permethrin); in questo modo si è ottenuta una molecola a bassa tossicità per gli animali superiori e una persistenza di 30-40 giorni (uso domestico e zootecnico). Successivamente è stato introdotto nella molecola un gruppo cianidrico (CN) (Cypermethrin) e poi la sostituzione di due atomi di Cloro con due di Bromo (Decamethrin) ottenendo una capacità insetticida 40 volte maggiore del Parathion. Infine la parte acida è stata sostituita in blocco con isopropil-clorofenil-acetato e composti affini contenenti Fluoro (es. Fluvalinate). In altra direzione l'industria ha sostituito la parte alcolica con un anello benzenico, ottenendo il Dimethrin (2, 4, dimetil-benzil-crisantemato), a bassissima tossicità ed utilizzato come disinfestante di acque potabili ai tropici. In seguito, mediante la sostituzione del benzene con un gruppo N-ftalimidico, si è ottenuto il Tetramethrin (neopinamina) e, sostituendo con composti furilici a catena laterale a triplo legame, si sono ottenuti il Furamethrin ed il suo isomero più attivo, il Proparathrin. Questi ultimi tre insetticidi sono aerosolizzati contro mosche e zanzare. Al gruppo furilico è stato poi agganciato un anello benzenico (Resmethrin) il quale conferisce all'insetticida una maggiore resistenza alla degradazione ossidativa (pur non diminuendone la fotolabilità). Infine manipolando la catena laterale dell'acido crisantemico si è ottenuto il Kadethrin, un insetticida ad effetto fulminante 60 volte più potente delle piretrine naturali. I piretroidi, forse oggi i più diffusi fra gli insetticidi, nascono da tutte queste operazioni di modifica sintetica di molecole naturali.

### **Ai giorni nostri**

Delle 1000 sostanze diffuse sul mercato europeo prima del 1993 soltanto 250 (circa il 25%) hanno superato i nuovi accertamenti a livello europeo. Nel 2008 l'EFSA (l'Autorità Europea per la sicurezza alimentare) ha raggiunto un importante traguardo del proprio lavoro di revisione della sicurezza delle sostanze attive attualmente impiegate nei pesticidi, come previsto nell'ambito della direttiva 91/414/CEE del Consiglio. Tale lavoro ha consentito di portare a termine il processo di revisione di tutte le sostanze commercializzate prima del 1993 e di stabilire un elenco di sostanze attive che possono essere incluse nei prodotti fitosanitari in tutta l'Unione Europea. A settembre 2008 l'EFSA ha istituito un nuovo Comitato direttivo sui pesticidi formato da rappresentanti dell'EFSA, della Commissione Europea e degli Stati membri per arrivare ad una omogenizzazione dei livelli massimi di residuo di pesticidi ammessi. Prima dell'introduzione della nuova direttiva il livello di protezione variava a seconda del Paese considerato.

L'EFSA ha anche affrontato il problema del rischio cumulativo a cui si accennava più sopra tanto che è stato espresso un parere su tutti i tipi di tossicità combinata dei pesticidi, compresa l'interazione fra sostanze chimiche diverse, in cui si concludeva che soltanto gli effetti cumulativi derivanti dall'esposizione concomitante a sostanze che hanno comuni modalità di azione davano adito a timori e richiedevano pertanto ulteriori approfondimenti.



Ernesto Burgio

Non sarebbe possibile, in questa sede trattare dei numerosi e complessi effetti dei pesticidi sulla salute umana. Se gli effetti neurotossici di queste sostanze, connessi direttamente al loro meccanismo tossico fondamentale (per così dire intenzionale) sono noti da decenni e sono stati studiati in modo approfondito, da alcuni anni stanno emergendo effetti nuovi e per certi versi ancora più allarmanti in quanto potenzialmente in grado di interferire sugli equilibri dell'intera biosfera (1). Intendiamo riferirci agli effetti generalmente definiti di "interferenza endocrina", essendo stati inizialmente studiati in questo ambito: effetti biochimici complessi prodotti sugli organismi più disparati da molecole sintetiche introdotte in ambiente dall'uomo e dotate di capacità mimetiche o di interferenza diretta e indiretta nei confronti delle più importanti molecole-segnaletto (ormoni, neurotrasmettitori, citochine ecc.) e/o dei loro recettori.

Questa drammatica storia ebbe inizio 50 anni fa, nel 1962, quando una biologa americana, Rachel Carson, scrisse uno dei libri più profetici (e più denigrati) del nostro tempo: *Silent Spring* (Primavera Silenziosa) (2), nel (vano) tentativo di avvertire l'umanità di una nuova, immensa minaccia che la sovrastava: l'inquinamento ambientale, che cominciava proprio allora a dare i suoi primi frutti di morte. Il libro era dedicato ad Albert Schweitzer, che aveva scritto "L'uomo ha perduto la capacità di prevenire e prevedere. Andrà a finire che distruggerà la Terra". Il titolo, fortemente evocativo, alludeva al silenzio che caratterizzava, già allora, i territori trattati con insetticidi e pesticidi, che avevano decimato gli uccelli canori.

"Più cose imparo sull'uso dei pesticidi, più sono preoccupata" scrisse la Carson, per spiegare le ragioni profonde della sua ricerca e di quella che ben presto fu definita (spesso sarcasticamente) la sua "crociata". "Quello che ho scoperto era che tutto ciò che era importante per me come naturalista veniva maltrattato, e che non c'era nient'altro di più importante che io potessi fare". E ancora: "Stiamo esponendo intere popolazioni a sostanze chimiche che sono state dichiarate estremamente velenose e in molti casi con effetti cumulativi. Queste esposizioni cominciano alla nascita, se non addirittura prima, e - a meno che le cose non cambino - continuerà per tutta la vita delle persone."

Inevitabilmente la Carson fu violentemente attaccata e delegittimata. Il *Time* riferiva nel 1999: "La Carson venne assalita violentemente da minacce di cause e derisione, inclusa l'insinuazione che questa scienziata così meticolosa fosse una "donna isterica" non qualificata a scrivere un libro di tale portata. Un imponente contrattacco venne organizzato e guidato da Monsanto, Velsicol, American Cyanamid e da tutta l'industria chimica, puntualmente supportata dal Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti come pure dai media." Scienziati dell'American Cyanamid come Robert White-Stevens (che scrisse: "Se l'uomo dovesse seguire gli insegnamenti di Miss Carson, si tornerebbe al Medioevo e gli insetti e le malattie erediterebbero ancora una volta la terra"), compagnie chimiche e altri critici attaccarono i dati e le interpretazioni presenti nel libro. Altri andarono ancora più a fondo attaccando le credenziali scientifiche della Carson perché "la sua specializzazione era la biologia marina e la zoologia, non la biochimica". Alcuni la definirono una semplice birdwatcher con troppo tempo libero e scarsa conoscenza scientifica, definendola non professionale. E una parte dei suoi oppositori la accusò di essere comunista (sic), che negli anni del maccartismo era un'accusa infamante ed estremamente pericolosa (3).

Il libro divenne comunque una sorta di "manifesto" del nascente movimento ambientalista. Pochi anni prima, nel 1956 in Giappone una fabbrica aveva rilasciato mercurio nella baia di Minamata e decine di bambini erano nati con gravi malformazioni a carico del Sistema Nervoso Centrale (4). Nel 1958 un medico americano aveva parlato per la prima volta di un "ciclo artificiale degli estrogeni" che aveva affiancato i cicli geochimici naturali che da miliardi di anni mantengono il flusso della vita (5).

Nel 1968 il Giappone fu teatro di un secondo "avvelenamento di massa": una notevole quantità di "olio di riso" venne contaminata da quelli che ormai erano definiti come interferenti endocrini [policlorobifenili (PCBs) e policlorodibenzofurani (PCDFs)]. Circa duemila persone manifestarono una reazione tossica subacuta (Yusho disease), caratterizzata da lesioni oculari e cutanee, irregolarità mestruali e alterazioni immunitarie. Dagli studi che proseguirono per decenni, anche in seguito a situazioni consimili verificatesi a Taiwan (Yu-Cheng disease) (6) e negli USA in seguito al consumo di

pesce inquinato con PCBs proveniente dai grandi laghi, si poté capire che i problemi più seri concernevano i bambini esposti nelle primissime fasi della vita e sarebbero emersi dopo molto tempo (7). Come chiaramente previsto e predetto da Rachel Carson.

Dal luglio del 1976 e per decenni fu il disastro di Seveso a fornire informazioni importanti circa la potenzialità tossiche a breve, medio (8) e lungo termine (9) di diossine e interferenti endocrini. Oggi, a mezzo secolo dall'uscita di Silent Spring, sarebbe difficile negare che l'allarme lanciato da Rachel Carson fosse fondato e sia stato lungamente sottovalutato. E che la presenza nelle catene alimentari e in tutta la biosfera di migliaia di molecole dotate di attività endocrino-mimetica o comunque in grado di interferire a vario livello sul metabolismo umano - molecole di sintesi (ftalati, bisfenolo A) o prodotte da processi industriali o dalla pratica incongrua di bruciare rifiuti (diossine) - è responsabile di innumerevoli problemi di salute che colpiscono la nostra ed altre specie.

È infatti sempre più probabile che non solo una cospicua percentuale delle malformazioni genitali, dei disturbi della sfera riproduttiva e dei problemi della sfera endocrina, in continuo aumento nel mondo, ma persino le grandi "epidemie" di malattie del neuro sviluppo e di obesità e diabete II che colpiscono milioni di bambini e adolescenti e rischiano di mettere in crisi i sistemi sociosanitari di tutto il mondo possano essere la conseguenza di una sorta di "de-programmazione epigenetica" dei sistemi segnaletici neuro-immuno-endocrini almeno in parte dovuta alla diffusione in biosfera e catene alimentari di tali sostanze (10). La rivoluzione "petrolchimica" che ha trasformato la nostra vita nel secondo dopoguerra sembra stia presentando il conto (11).

Nei primi anni 90, Theo Colborn, Friedrich Vom Saal e Ana Soto tradussero i suaccennati allarmi in una teoria articolata, secondo cui, appunto, all'origine dei sempre più drammatici segni di alterazione dei sistemi ormonali e degli apparati riproduttivi degli organismi superiori, c'era la dispersione in ambiente di molecole in grado di interferire a vario livello: tanto sulla bio-sintesi degli ormoni, che sui meccanismi di feed-back, che sui meccanismi recettoriali (12). Particolarmente importante fu la scoperta che l'azione di queste sostanze è massima nelle primissime fasi dell'ontogenesi embrio-fetale, proprio in ragione della loro capacità di interferire sulla programmazione delle pathways di segnalazione neuro-endocrina (13).

Nel 1997 l'Environmental Protection Agency (EPA) accettò ufficialmente per tali sostanze la definizione (che oggi dovremmo riconoscere come estremamente riduttiva) di interferenti o distruttori endocrini (EDCs-Endocrine Disruptor Chemicals): agenti chimici in grado di interferire con la produzione, il rilascio, il trasporto, il metabolismo, i legami, l'azione, l'eliminazione degli ormoni naturali responsabili del mantenimento dell'omeostasi, delle funzioni riproduttive, dello sviluppo e del comportamento (14). Ben presto si capì che, come gli ormoni sono in grado di agire in concentrazioni minimali (in ragione della specificità del loro meccanismo di attivazione recettoriale), così queste sostanze, presenti in tutti gli ambiti dell'ecosfera, possono, in quantità minime, produrre effetti gravissimi mimando o bloccando l'azione di ormoni, neurotrasmettitori e molecole segnale che regolano il nostro metabolismo e il funzionamento dei sistemi nervoso, endocrino, immunitario.

Sostanze come il bisfenolo A, lungamente utilizzato come plastificante persino nei biberon e in altri contenitori per alimenti; pesticidi utilizzati in agricoltura e presenti in tutte le catene alimentari; metalli pesanti prodotti e liberati nei processi di combustione si accumulano per decenni nei tessuti materni possono interferire sullo sviluppo e il funzionamento di organi e apparati: e il dato più preoccupante, per quanto concerne tali sostanze, è appunto che esse esplicano la loro massima attività nelle primissime fasi dell'ontogenesi embrio-fetale. L'intero sviluppo embriofetale è infatti regolato da molecole segnale, i cosiddetti morfogeni, che modulano la realizzazione del programma genetico ed epigenetico. Mimando o interagendo in vario modo con l'azione di tali molecole-segnale, i distruttori endocrini possono interferire su tutte le tappe della differenziazione cellulare e della programmazione epigenetica di organi e tessuti.

Se possibile ancora più allarmante è la possibilità, ormai ampiamente documentata, che tali molecole danneggino o comunque modifichino il genoma delle cellule germinali, interferendo con i processi ereditari. È stato, ad esempio, dimostrato che alcuni pesticidi (15) (o loro misture (16)) possono marcare il DNA gametico e che queste epimutazioni possono indurre alterazioni fenotipiche patologiche nelle susseguenti generazioni.

E tutto questo a dosi veramente infinitesime. Nel campo degli interferenti endocrini infatti:

### **.. La dose non fa il veleno**

Nel giro di pochi anni fu evidente che gli studi tossicologici non potevano più basarsi sulla classica regola della “dose che fa il veleno”, visto che per quanto concerne gli interferenti endocrini quantità infinitesime possono causare danni enormi e che spesso non vi è correlazione tra dose ed effetti.

Un caso emblematico è, in tal senso, quello del dietilesilftalato (DEHP) un plastificante che a bassi dosaggi (10mg/kg) accelera lo sviluppo puberale di alcuni animali, mentre a dosi alte (750mg/kg) lo rallenta (17). Casi altrettanto “paradossali”, con effetti opposti nei due sessi (sviluppo puberale precoce nelle femmine e ritardo puberale nei maschi) sono stati segnalati in ratti esposti a genisteina (il principale isoflavone contenuto nella soia) e a pesticidi come il metossicloro (18). Ed è interessante notare come il metossicloro (MXC) - un pesticida (insetticida) di comune impiego su colture ad uso alimentare, messo in campo come “sostituto non tossico” del DDT - si sia rivelato un potente perturbatore endocrino che interferisce sullo sviluppo del tratto riproduttivo, dis-regolando il gene Hoxa10 (un gene master dello sviluppo embrione-fetale) (19) e interferendo con l’impianto dell’embrione. Gli effetti tossici ed epigenotossici sono ormai noti anche in ambito eco-sistemico: ne è stata ad esempio dimostrata la possibile interferenza con i sistemi metabolici e riproduttivi dei pesci (20).

### **Più che la dose è importante il timing: le finestre di esposizione**

Altrettanto importante è sottolineare che gli effetti di tutte queste sostanze variano enormemente in relazione al grado di maturazione degli organismi interessati: l’esposizione a quantità minime di interferenti endocrini nelle primissime fasi della vita (finestre di esposizione) (21) può infatti avere effetti drammatici, destinati a evidenziarsi dopo anni o decenni, visto che, come detto, tali sostanze possono letteralmente “s-programmare” organi e tessuti, agendo sul DNA o meglio sul suo software, l’epigenoma.

### **Esposizione multipla e sinergismo**

Numerosi studi biochimici e tossicologici dimostrano come i perturbatori endocrini, pur differendo enormemente sul piano molecolare, utilizzino gli stessi meccanismi d’azione: pesticidi, diossine e furani, policlorobifenili, ftalati, farmaci estrogenici e metalli pesanti interferiscono infatti sugli stessi recettori e pathways intracellulari.

Questo favorisce enormemente gli effetti tossici sinergici: sono stati documentati, ad esempio, durante lo sviluppo embrione-fetale, effetti combinati sia tra composti dello stesso gruppo chimico (ad esempio gli ftalati), che tra molecole totalmente diverse tra loro (come plasticizzanti e pesticidi) (22).

Tra gli effetti combinati più noti possiamo ricordare le alterazioni nella produzione di testosterone dovute a quantità minime di ftalati diversi (23) e le alterazioni della sfera genitale femminile secondarie alla esposizione a miscele di interferenti endocrini dotate di effetto estrogenico (bisfenolo A, genisteina, estradiolo, dietilstilbestrolo) somministrate in dosi insignificanti (24).

È evidente che tali possibili effetti combinati e sinergici rendono estremamente difficile la valutazione degli effetti tossici complessivi (25). Ed è importante notare come, mentre i primi studi si erano concentrati sull’identificazione di prodotti chimici in grado di interferire direttamente sui recettori degli steroidi e degli ormoni tiroidei e di danneggiare la sfera sessuale/riproduttiva, gli studi più recenti abbiano messo in rilievo come gli interferenti endocrini possano disturbare le principali pathways segnalatiche intercellulari e intracellulari e i circuiti di regolazione omeostatica e metabolica (26); come alcune di queste molecole possano agire sulle cellule embrione-fetali in via di differenziazione, alterando la programmazione dei tessuti centrali (ipotalamo/asse ipotalamo-ipofisario-surrenalico) e periferici (tessuto adiposo, tessuto muscolare) e causando, in particolare nelle zone caratterizzate da inquinamento persistente da tali sostanze, un incremento significativo di patologie complesse e in particolare di obesità e diabete 2 (27); come la “diffusione globale” in ambiente e catene alimentari di “interferenti obesogeni” (28) potrebbe rappresentare (come abbiamo visto nel capitolo precedente) la causa più importante delle grandi epidemie di obesità/diabesità che allarmano le maggiori agenzie internazionali (29).

In particolare l’incremento pandemico di obesità e diabesità appare il prodotto di un’alterata regolazione del metabolismo glucidico e lipidico e il meccanismo di base sembra essere quello di un’alterata programmazione in utero degli organi e tessuti, centrali e periferici, implicati. Negli ultimi anni la ricerca si è concentrata sui circuiti di regolazione centrale (centri ipotalamici di appetito e

sazietà), mettendo in rilievo le alterazioni delle modalità di trasmissione, integrazione, elaborazione dei segnali periferici (leptina, insulina, grelina) (30) e/o a carico dei principali neuropeptidi ipotalamici (NPY e melanocortine) (31) e neurotrasmettitori (serotonina e monoamine: noradrenalina, dopamina) (32). Ma anche l'alterata programmazione dei tessuti periferici (fegato, tessuto adiposo e muscolare) svolge un ruolo chiave.

Per quanto concerne la sfera genitale e riproduttiva è noto come la concentrazione spermatica nel 1990 risultasse già dimezzata rispetto a cinquant'anni prima (33) e come il numero di bambini con malformazioni genitali (criptorchidismo, ipospadia etc.) sia in grande aumento in tutto il mondo (34) e anche in Italia, in specie nelle aree più inquinate (35). È proprio il contemporaneo verificarsi di trend crescenti in svariate patologie dell'apparato riproduttivo maschile (ipospadie, criptorchidismo e cancro testicolare) e femminile (pubertà precoce (36), irregolarità mestruali (37), sindrome dell'ovaio policistico (38)..) a suggerire che all'origine di tutto questo ci sia un'aumentata esposizione a interferenti endocrini (39).

Particolarmente interessante appare l'aumentato rischio di patologie neurodegenerative dell'adulto, quali il Parkinson, in seguito al consumo di acqua contaminata da pesticidi, compreso il clorpirifos (40) ed i danni alla tiroide per esposizione a mancozeb. L'esposizione a questo ultimo agente - unico fra le molecole indagate - risulta essere correlata sia ad iper che ad ipotiroidismo, a testimonianza della complessità dell'azione di questi agenti, e tipica comunque degli interferenti endocrini in grado di "spegner" o viceversa esaltare le funzioni ormonali (41).

### **Pubertà precoce femminile, obesità e tumori mammari**

Pubertà precoce femminile, obesità e tumori mammari sono patologie che hanno avuto un notevole incremento negli ultimi decenni. Si è cercato in vario modo di spiegare (l'incremento di) tali patologie, privilegiando collegamenti di tipo "orizzontale": si è cercato cioè di comprendere in che modo la pubertà precoce possa favorire l'obesità e/o l'insorgenza di un carcinoma del seno, o in qual misura possa essere l'obesità a favorire una pubertà precoce o la trasformazione neoplastica del tessuto mammario (e di altri tessuti). Meno frequentemente si è cercata una rappresentazione "verticale" del problema: cioè un'origine comune, una causa unica che possa favorire l'insorgenza delle tre patologie.

In genere si ammette all'origine delle suddette patologie uno "squilibrio ormonale". In molti casi all'origine della pubertà precoce "vera" (centrale) si riconosce un'attivazione prematura dell'asse ipotalamo-ipofisario-gonadico. Problemi ormonali vari e complessi (interni al tessuto adiposo ed esterni ad esso) appaiono determinanti nella gran parte dei casi di obesità e della "pandemia" di obesità e diabete 2 che, come detto, rischia di diventare uno dei maggiori problemi di salute pubblica delle cosiddette società "svilupgate" (e non solo): leptino-resistenza e insulino-resistenza periferica rappresentano certamente due meccanismi chiave, ma anche in questo caso il ruolo dell'ipotalamo appare fondamentale. La prolungata esposizione a estrogeni endogeni - connessa all'anticipazione del periodo puberale e alla procrastinazione (anche indotta) della menopausa - ed esogeni (e a loro equivalenti sintetici e mimetici) rappresenta un fattore-chiave dell'aumento di tumori mammari.

### **Le patologie del neuro sviluppo e neurodegenerative**

Sappiamo da tempo che molti "pesticidi" utilizzate in ambito agricolo, ma anche casalingo, agiscono come veri e propri neuro-veleni e che anche in altri mammiferi l'esposizione prenatale agli antiparassitari organoclorati dieldrin e lindano altera le sinapsi, riducendo l'espressione, la conformazione e le capacità di legame dei recettori GABAA del tronco encefalico (42).

Soprattutto sappiamo che alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato, ancora una volta, come sia l'esposizione prenatale quella che dobbiamo temere più di ogni altra. Uno studio recente, ad esempio, ha dimostrato, utilizzando le stime di esposizione tratte da un "database storico", che i bambini nati dalle madri maggiormente esposte in gravidanza a insetticidi organoclorurati hanno 7,6 volte più probabilità di essere diagnosticati con sindromi dello spettro autistico rispetto ai figli di madri che hanno vissuto nel quartile più basso di esposizione (43) e associazioni consimili sono state osservate per insetticidi piretroidi e organofosfati.

Le patologie del neurosviluppo e neurodegenerative rappresentano indubbiamente il capitolo più significativo, insieme alle malattie endocrino-metaboliche (in primis obesità e diabete 2), di una vera e propria transizione epidemiologica in atto negli ultimi decenni. L'esposizione in utero e durante i primi mesi/anni di vita a vari agenti chimico-fisici può determinare alterazioni nel processo di sviluppo di vari tessuti e organi che possono persistere per tutta la vita e portare a malattie nella vita adulta (44).



### **Lancet, 2006: Una “Pandemia Silenziosa”**

Si tratta di una problematica di dimensioni epocali, che concerne soprattutto il nostro sistema nervoso centrale e in particolare, il nostro cervello, un organo il cui sviluppo dura molto a lungo e, per ciò che concerne la formazione delle principali connessioni intercellulari (sinapsi, circuiti) che ci permettono di pensare e comunicare, per tutta la vita. Se infatti per ogni organo o tessuto esiste una specifica “finestra” di tempo abbastanza delimitata in cui la sensibilità a fattori stressanti e/o tossici è massima, per quanto concerne il cervello la fase precoce di “iper-sensibilità” si protrae nei primi 2 anni di vita e concerne un’ampia gamma di insulti e situazioni stressanti.

Che un’esposizione precoce a piombo, mercurio, pesticidi, solventi, PCBs o IPA possa danneggiare seriamente il cervello è noto da decenni e vari autori hanno ipotizzato che l’incremento drammatico delle malattie del neuro-sviluppo registrato negli ultimi anni possa avere queste origini.

I rischi legati all’esposizione a queste sostanze sono particolarmente importanti per l’infanzia e semplicemente digitando in data 18 gennaio 2012 i termini “pesticides children” sul motore di ricerca scientifico Pubmed sono comparsi ben 4841 articoli al riguardo!

I pesticidi in particolare sono ritenuti responsabili della PANDEMIA SILENZIOSA, ovvero di gravi danni neuropsichici e comportamentali che sempre più si verificano nell’infanzia e che vanno dal deficit di attenzione ed iperattività all’autismo, fino alla riduzione del Quoziente Intellettivo.

Che la diffusione in ambiente e biosfera di molecole mimetiche, pesticidi, metalli pesanti ed altri inquinanti in grado di interferire negativamente sullo sviluppo neuro-endocrino dell’embrione, del feto e del bambino rischi di produrre danni gravissimi è un dato che emerge da decine di studi scientifici.

Nel novembre del 2006 un articolo pubblicato su The Lancet a firma di un pediatra (Landrigan) e di un epidemiologo (Grandjean), della Harvard School of Public Health ha posto con forza il problema di una possibile “pandemia silenziosa” di danni neuro-psichici che si starebbe diffondendo, nell’indifferenza generale, interessando il 10% dei bambini del cosiddetto I mondo (45).

Si tratta di un problema che alcuni ricercatori avevano segnalato già nei primi anni ’60, ma che è divenuto drammaticamente attuale se è vero che, da un lato, numerosi studi condotti in Europa e USA hanno rilevato la presenza di centinaia di molecole chimiche di sintesi, molte delle quali estremamente neuro-tossiche (mercurio e metalli pesanti in genere, ritardanti di fiamma, pesticidi, PCBs e altri perturbatori endocrini) in placenta, nel sangue cordonale e nel latte materno e che, d’altro canto, è in atto in tutto il Nord del mondo un incremento drammatico di patologie del neurosviluppo (con un incremento di prevalenza da 1:1200 a 1: 88 in tre decenni, per ciò che concerne le patologie dello spettro autistico), e neurodegenerative (in particolare malattia di Alzheimer e morbo di Parkinson) alla cui origine questa esposizione embrio-fetale potrebbe non essere estranea.

### **Lancet 2013: “Pandemia Silenziosa” Atto II**

A distanza di sette anni Grandjean e Landrigan hanno aggiornato, ancora sulle pagine di Lancet, i dati della letteratura scientifica sul “pandemia silenziosa”, sottolineando come alcuni recenti studi prospettici, in cui sono state misurate le esposizioni materno-fetali, abbiano documentato effetti neurotossici a livelli di esposizione molto più bassi di quelli prima ritenuti sicuri; come altri studi successivi al 2006 mettano in relazione l’esposizione prenatale a pesticidi organofosfati e carbammati e ai ritardanti di fiamma e patologie del neuro sviluppo, estendendo ulteriormente il numero delle sostanze certamente tossiche per il sistema nervoso in via di sviluppo (46).

In uno studio prospettico di coorte è stato osservato un aumento del 230% di sintomi tipici dei disturbi pervasivi dello sviluppo per aumenti di 10-nM/L dei livelli materni prenatali di metaboliti urinari di insetticidi organofosfati (47).

Nel giugno 2000, l’Agenzia americana per la Protezione dell’Ambiente (Environmental Protection Agency, EPA) ha annunciato il divieto di commercializzare, a partire dal 31 dicembre 2001, il clorpirifos, un insetticida organofosfato tra i più utilizzati per uso residenziale. Nell’ambito di uno studio di coorte prospettico iniziato nel 2003 livelli rilevabili di clorpirifos furono lungamente trovati praticamente in tutti campioni di aria indoor e nel 60% - 70 % di campioni di sangue raccolti da madri e neonati al momento del parto. Inoltre i livelli ematici materni e quelli dei neonati risultarono fortemente correlati, il che indicava che il pesticida attraversa facilmente e rapidamente la placenta (48). Gli effetti sullo sviluppo motorio e cognitivo dell’esposizione prenatale furono poi valutati in 254 bambini, nei primi tre anni di vita, in funzione dei livelli di clorpirifos nel plasma del cordone ombelicale e i risultati furono pubblicate nel 2006 su Pediatrics: a tre anni di età i bambini più esposti presentavano un

punteggio significativamente più basso rispetto ai meno esposti nella valutazione delle capacità mentali e motorie; nel tempo i deficit cognitivi e psicomotori aumentavano; disturbi dello spettro autistico e Sindrome da Difetto di Attenzione e Iperattività (ADHD) a tre anni erano più frequenti nei bambini con maggiore esposizione (49). E uno studio, anch'esso recentemente pubblicato su *Pediatrics*, ha ulteriormente supportato l'ipotesi che l'esposizione a organofosfati, a livelli comuni tra i bambini americani, potrebbe aver contribuito all'attuale prevalenza di ADHD (un incremento di dieci volte della concentrazione urinaria dei metaboliti organofosforici sarebbe associato ad un aumento di rischio del 55% - 72 %) (50).

Altri tre recenti studi americani, condotti indipendentemente presso l'Università di Berkeley (51) il Mt. Sinai Medical Center (52) e la Columbia University (53), dimostrano che le donne esposte durante la gravidanza ai pesticidi usati in agricoltura metteranno al mondo figli meno intelligenti della media.

In particolare l'esposizione in gravidanza a pesticidi a base di organofosfati (composti chimici molto utilizzati in agricoltura) può portare i propri figli ad avere un quoziente intellettivo (QI) molto ridotto già all'età di 7 anni. Più precisamente, un'esposizione prenatale dieci volte superiore alla norma corrisponde ad un calo di 5,5 punti nei test sul QI. Le ricerche a Berkeley, iniziate nel 1999 nella comunità californiana di Salinas, un centro agricolo della Monterey County, hanno basato le loro analisi sulla misurazione dei metaboliti. Gli studi del Sinai Medical Center e della Columbia University, invece, hanno esaminato le popolazioni urbane di New York City. Come nel caso dei ricercatori di Berkeley, gli scienziati di Mount Sinai hanno campionato i metaboliti, mentre i ricercatori della Columbia hanno esaminato i livelli di clorpirifos (un particolare antiparassitario) nel sangue del cordone ombelicale.

### **Generazioni future**

Ma l'aspetto più preoccupante concerne, come detto, la possibile trasmissione di alcune delle marcature epigenetiche reattive da una generazione all'altra (54), che potrebbe implicare una progressiva amplificazione transgenerazionale del danno. E non sono soltanto le "pandemie" di obesità e diabete a rendere questa ipotesi verosimile: è infatti innegabile che in pochi decenni quasi tutte le patologie di ambito endocrino-metabolico (ivi compresi i tumori a carico di tiroide, ipofisi, ma soprattutto mammella, prostata, testicolo e pancreas) sono notevolmente aumentate, spingendo numerosi ricercatori a indagare circa le cause ambientali e in particolare chimiche (EDCs) di un tale incremento (55).

Tutto ciò apre ovviamente scenari ancor più preoccupanti in quanto siamo di fronte alla possibilità di una amplificazione del danno e alla sua trasmissibilità attraverso le generazioni e dà ragione della crescente attenzione e preoccupazione circa gli effetti di queste molecole specie sulle frange più sensibili della popolazione: feti, neonati, bambini, donne.

Tali effetti si manifestano spesso tardivamente (anche dopo decenni) e variano non solo in base alla durata, al tipo di sostanza e alla loro quantità, ma anche a seconda del momento in cui avviene l'esposizione. Gravidanza, allattamento, vita fetale, infanzia e pubertà sono momenti cruciali, "finestre espositive", in cui il contatto con tali agenti può comportare effetti particolarmente gravi.

È stato recentemente dimostrato che l'esposizione a DDT (un agente in uso come insetticida negli anni '50 che - anche se bandito da anni - ancor oggi è presente nelle matrici ambientali) è correlato ad un aumentato rischio di cancro mammario se l'esposizione è avvenuta in età pre-pubere (56)

### **Conclusioni**

Già sulla base di quanto detto fin qui è facile comprendere come i pesticidi si siano andati via via rivelando assai più pericolosi di quanto fosse stato inizialmente previsto sia per gli equilibri ecologici (assai temuta e in questo senso la loro possibile azione distruttiva nei confronti degli insetti impollinatori), che per la bio-diversità in generale (57), che per la salute umana.

Per quanto concerne più specificamente la salute umana, mentre per decenni ci si era concentrati sugli effetti tossici nei soggetti direttamente e massicciamente esposti per motivi occupazionali, la preoccupazione di scienziati e medici di tutto il mondo si è progressivamente spostata sulla popolazione generale e soprattutto sugli organismi in via di sviluppo, notoriamente assai più sensibili all'azione tossica e soprattutto (epi) genotossica di queste sostanze.

Centinaia di studi hanno attestato la presenza di pesticidi in quantità potenzialmente tossiche nelle falde idriche superficiali e profonde, nelle catene alimentari e persino nel sangue di donne e bambini di

tutto il mondo; identificato numerosi meccanismi patogenetici a carico di tutti i principali sistemi, organi e tessuti animali e umani; dimostrato la loro persistenza in vari tessuti e organi e la possibile sinergia d'azione (58).

Tra le malattie più frequentemente associate a esposizione persistente a piccole dosi di pesticidi vanno ricordate le patologie neurodegenerative (Parkinson, SLA, Alzheimer) (59) e del neurosviluppo (patologie dello spettro autistico, ADHD) (60); della sfera genitale e riproduttiva; endocrino-metaboliche (obesità, diabete 2), e varie forme di cancro (61).

È importante sottolineare come sempre più frequentemente voci autorevoli di scienziati e medici di tutto il mondo colleghino l'incremento delle suddette malattie e soprattutto la "pandemia silenziosa" di malattie del neurosviluppo e quella sempre più allarmante di obesità e diabeti infantile e giovanile alla diffusione capillare di tali sostanze biocide e bio-mimetiche nell'ambito dell'ecosfera e all'esposizione sempre più precoce di organismi in via di sviluppo.

Su queste basi possiamo affermare che soltanto una drastica riduzione nella produzione e nell'uso di tali sostanze in tutto il mondo potrebbe, nei prossimi anni, contribuire a ridurre il carico drammatico di malattie croniche e degenerative che, secondo la stessa OMS potrebbe determinare il collasso dei sistemi socio-sanitari del Nord del pianeta.

### Bibliografia

- 1) McLachlan JA Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals *Endocr Rev.* (2001); 22(3):319-41.
- 2) Carson R. *Silent Spring*. New York, Houghton Mifflin, 1962.
- 3) [http://it.wikipedia.org/wiki/Rachel\\_Carson](http://it.wikipedia.org/wiki/Rachel_Carson) [http://en.wikipedia.org/wiki/Rachel\\_Carson](http://en.wikipedia.org/wiki/Rachel_Carson)
- 4) Mcalpine D, Araki S. Minamata disease: an unusual neurological disorder caused by contaminated fish. *Lancet* 1958 20;2 (7047): 629-31; Kurland Lt, Faro Sn, Siedler H. Minamata disease. The outbreak of a neurologic disorder in Minamata, Japan, and its relationship to the ingestion of seafood contaminated by mercuric compounds. *World Neurol.* (1960);1:370-95; Eto K. Minamata disease *Neuropathology* (2000); 20 Suppl:S14-9.
- 5) Gassner FX, Reifenstein Jr EC, Algeo JW, Mattox WE Effects of hormones on growth, fattening, and meat production potential of livestock. *Recent Prog Horm Res.* (1958)14:183-217; McLachlan JA. Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals *Endocr Rev.* (2001);22(3):319-41.
- 6) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T, Kuwabara M. Overview of Yusho. *J Dermatol Sci.* 2005;1:S3-S10.
- 7) Aoki Y. Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters--what we have learned from Yusho disease *Environ Res.* (2001);86(1):2-11.
- 8) Mastroiaco P, Spagnolo A, Marni E, Meazza L, Bertollini R, Segni G, Borgna-Pignatti C. Birth defects in the Seveso area after TCDD contamination. *JAMA.* (1988) 18;259(11):1668-1672; Bertazzi PA, Zocchetti C, Pesatori AC, Guercilena S, Sanarico M, Radice L. Ten-year mortality study of the population involved in the Seveso incident in 1976. *Am J Epidemiol.* (1989);129(6): 1187-1200; Needham LL, Gerthoux PM, Patterson DG Jr, Brambilla P, Turner WE, Beretta C, Pirkle JL, Colombo L, Sampson EJ, Tramacere PL, Signorini S, Meazza L, Carreri V, Jackson RJ, Mocarelli P. Serum dioxin levels in Seveso, Italy, population in 1976 *Teratog Carcinog Mutagen.* 1998;17(4-5):225-40; Pesatori AC, Consonni D, Bachetti S, Zocchetti C, Bonzini M, Baccarelli A, Bertazzi PA. Short- and long-term morbidity and mortality in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident" *Ind Health.* (2003);41(3):127-38.
- 9) Bertazzi PA, Zocchetti C, Guercilena S, Consonni D, Tironi A, Landi MT, Pesatori AC. Dioxin exposure and cancer risk: a 15-year mortality study after the "Seveso accident". *Epidemiology.* (1997);8(6):646-652; Baccarelli A, Giacomini SM, Corbetta C, Landi MT, Bonzini M, Consonni D, Grillo P, Patterson DG, Pesatori AC, Bertazzi PA. Neonatal thyroid function in Seveso 25 years after maternal exposure to dioxin *PLoS Med.* (2008) 29;5(7):e161; Pesatori AC, Consonni D, Rubagotti M, Grillo P, Bertazzi PA. Cancer incidence in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident": twenty years of follow-up *Environ Health.* (2009) 15;8:39.
- 10) Baillie-Hamilton, P.F., Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic *J. Altern. Complement Med.* (2002) 8 (2), 185-192; Grun F, Blumberg B.. Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology* (2006), 147(6 Suppl):S50-S55.
- 11) Neel BA, Sargis RM. The Paradox of Progress: Environmental Disruption of Metabolism and the Diabetes Epidemic *Diabetes.* 2011; 60(7):1838-48.
- 12) Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 1993;101:378-384.
- 13) Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans *Environ Health Perspect.* (1993);101(5):378-84; McLachlan JA. Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. *Endocr Rev.* (2001);22(3):319-41.

- 14) Environmental Protection Agency. Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis. Washington, D.C., U.S. Environmental Protection Agency, 1997.
- 15) Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* (2005)308: 1466–1469.
- 16) Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, Skinner M (2012) Pesticide and Insect Repellent Mixture (Permethrin and DEET) Induces Epigenetic Transgenerational Inheritance of Disease and Sperm Epimutations. *Reproductive Toxicology* 34: 708–719.
- 17) Ge RS, Chen GR, Dong Q, Akingbemi B, Sottas CM, Santos M, Sealfon SC, Bernard DJ, Hardy MP. Biphasic effects of postnatal exposure to diethylhexylphthalate on the timing of puberty in male rats. *J Androl.* 2007; 28(4):513-20.
- 18) You L, Casanova M, Bartolucci EJ, Fryczynski MW, Dorman DC, Everitt JI, Gaido KW, Ross SM, Heck Hd H. Combined effects of dietary phytoestrogen and synthetic endocrine-active compound on reproductive development in Sprague-Dawley rats: genistein and methoxychlor. *Toxicol Sci.* 2002;66(1):91-104.
- 19) Fei X, Chung H, Taylor HS. Methoxychlor disrupts uterine Hoxa10 gene expression. *Endocrinology* (2005); 146(8): 3445-51. Epub 2005 May 12.
- 20) Blum JL, Nyagode BA, James MO, Denslow ND. Effects of the pesticide methoxychlor on gene expression in the liver and testes of the male largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquat Toxicol.* (2008); 86(4):459-69. doi: 10.1016/j.aquatox.2007.12.008. Epub 2008 Jan 3..
- 21) Welsh M, Saunders PT, Finken M, Scott HM, Hutchison GR, Smith LB, Sharpe RM. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J Clin Invest.* 2008;118(4):1479-90.
- 22) Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, Gray LE Jr. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci.* 2008;105(1):153-65; Jacobsen PR, Christiansen S, Boberg J, Nellemann C, Hass U. Combined exposure to endocrine disrupting pesticides impairs parturition, causes pup mortality and affects sexual differentiation in rats. *Int J Androl.* 2010; 33(2):434-42; Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* 2010;33(2):443-62.
- 23) Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR, Hotchkiss AK, Gray LE Jr. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci.* 2008 Sep;105(1):153-65.
- 24) Tinwell H, Ashby J. Sensitivity of the immature rat uterotrophic assay to mixtures of estrogens. *Environ Health Perspect.* 2004; 112(5):575-82.
- 25) Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl.* (2010); 33(2):443-62; Hass U, Scholze M, Christiansen S, Dalgaard M, Vinggaard AM, Axelstad M, Metzendorff SB, Kortenkamp A. Combined exposure to anti-androgens exacerbates disruption of sexual differentiation in the rat. *Environ Health Perspect.* (2007) 115, Suppl 1:122-8.
- 26) Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol* (2011);73:135–162.
- 27) Bertazzi PA, Consonni D, Bachetti S, et al. Health effects of dioxin exposure: a 20-year mortality study. *Am J Epidemiol* 2001;153:1031–1044; Beard J, Sladden T, Morgan G, Berry G, Brooks L, McMichael A. Health impacts of pesticide exposure in a cohort of outdoor workers. *Environ Health Perspect* 2003;111:724–730; Wang SL, Tsai PC, Yang CY, Leon Guo Y. Increased risk of diabetes and polychlorinated biphenyls and dioxins: a 24-year follow-up study of the Yucheng cohort. *Diabetes Care* 2008;31:1574–1579.
- 28) Grün F, Blumberg B. Endocrine disrupters as obesogens. *Mol Cell Endocrinol* (2009);304:19–29.
- 29) James WP. WHO recognition of the global obesity epidemic. *Int J Obes (Lond).*(2008);32 Suppl 7:S120-6.
- 30) Cheung, C.C. et al. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* (1997) 138, 4489–4492 ; Cowley, M.A. et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* (2001) 411, 480–484; Niswender, K.D. and Schwartz, M.W. Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Front. Neuroendocrinol.* (2003) 24, 1–10; Cowley, M.A. et al. (2003) The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37, 649–661.
- 31) Mercer, J.G. et al. Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *J. Neuroendocrinol.* (1996) 8,733–735; Chen, P. et al. Altered expression of agouti-related protein and its colocalization with neuropeptide Y in the arcuate nucleus of the hypothalamus during lactation. *Endocrinology* (1999) 140, 2645–2650.
- 32) Grill, H.J. and Kaplan, J.M. The neuroanatomical axis for control of energy balance. *Front. Neuroendocrinol.* (2002) 23, 2–40; Saper, C.B. et al. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* (2002)

- 36, 199–211; Schwartz, M.W. Brain pathways controlling food intake and body weight. *Exp. Biol. Med.* (2001) 226, 978–981.
- 33) Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ.* (1992) 12;305(6854):609-13; Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* (1993); 341:1392-1395.
- 34) Czeizel A. Increasing trends in congenital malformations of male external genitalia. *Lancet* (1985); 1: 462-463; Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics.* (1997); 100(5): 831-4; Paulozzi LJ. International trends in rates of hypospadias and cryptorchidism. *Environ Health Perspect* (1999); 107: 297-302; Leung AK, Robson WL. Hypospadias: an update. *Asian J Androl.*(2007);9(1):16-22; Paris F, Gaspari L, Philibert P, Maïmoun L, Kalfa N, Sultan C. Disorders of sex development: neonatal diagnosis and management. *Endocr Dev.* 2012;22:56-71.
- 35) Gaspari L, Paris F, Jandel C, Kalfa N, Orsini M, Daurès JP, Sultan C. Prenatal environmental risk factors for genital malformations in a population of 1442 French male newborns: a nested case-control study. *Hum Reprod.* 2011 Nov;26(11):3155-62; Bianchi F, Bianca S, Linzalone N, Madeddu A. Sorveglianza delle malformazioni congenite in Italia: un approfondimento nella provincia di Siracusa. *Epidemiol Prev* (2004); 28(2): 87-93; Bianchi F., Bianca S., Dardanoni G., Linzalone N., Pierini A. Malformazioni congenite nei nati residenti nel Comune di Gela (Sicilia, Italia) *Epidemiol Prev* (2006); 30 (1), 19-24.
- 36) Kaplowitz P. Pubertal development in girls: secular trends. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 2006, 18(5):487-491; Sultan C, Gaspari L, Kalfa N, Paris F Clinical expression of precocious puberty in girls. *Endocr Dev.* (2012);22:84-100.
- 37) Rigon F, De Sanctis V, Bernasconi S, Bianchin L, Bona G, Bozzola M, Buzi F, Radetti G, Tatò L, Tonini G, De Sanctis C, Perissinotto E Menstrual pattern and menstrual disorders among adolescents: an update of the Italian data *Ital Journal Ped.* 2012; 38: 38; Sultan C, Gaspari L, Paris F. Adolescent dysmenorrhea. *Endocr Dev.* 2012;22:171-80.
- 38) Abbott DH, Dumesic DA, Franks S. Developmental origin of polycystic ovary syndrome - a hypothesis *J Endocrinol.* (2002);174(1):1-5; Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update.* (2001);7(1):3-7; Franks S. Polycystic ovary syndrome in adolescents. *Int J Obes (Lond).* (2008);32(7):1035-41.
- 39) Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* (1993); 341:1392-1395; Toppari J, Larsen JC, Christiansen P et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect* (1996);104 (suppl 4): S741-S803; Burdorf A, Nieuwenhuisen MJ. Endocrine disrupting chemicals and human reproduction: fact or fiction? *Ann Occup Hyg* (1999); 43: 435-437; Joffe M. Are problems with male reproductive health caused by endocrine disruption? *Occup Environ Med* (2001); 58: 281-288.
- 40) Gatto NM, Cockburn M, Bronstein J, Manthripragada AD, Ritz B Well-Water consumption and Parkinson's disease in rural California *Environ Health Perspect.* 2009 Dec;117(12):1912-8. doi: 10.1289/ehp.0900852. Epub 2009 Jul 31
- 41) Goldner WS, Sandler DP, Yu F, Hoppin JA, Kamel F, Levan TD Pesticide use and thyroid disease among women in the Agricultural Health Study *Am J Epidemiol.* 2010 Feb 15;171(4):455-64. doi: 10.1093/aje/kwp404. Epub 2010 Jan 8
- 42) Brannen KC, Devaud LL, Liu J, Lauder JM. Prenatal exposure to neurotoxicants dieldrin or lindane alters tert-butylbicyclophosphorothionate binding to GABA<sub>A</sub> receptors in fetal rat brainstem. *Dev Neurosci.* 1998;20(1):34–41; Liu J, Brannen KC, Grayson DR, Morrow AL, Devaud LL, Lauder JM. Prenatal exposure to the pesticide dieldrin or the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist bicuculline differentially alters expression of GABA<sub>A</sub> receptor subunit mRNAs in fetal rat brainstem. *Dev Neurosci.* 1998;20(1):83–92
- 43) Roberts EM, English PB, Grether JK, Windham GC, Somberg L, Wolff C. Maternal residence near agricultural pesticide applications and autism spectrum disorders among children in the California Central Valley. *Environ Health Perspect.* 2007;115:1482–1489
- 44) Shelton JF, Hertz-Picciotto I, Pessah IN. Tipping the Balance of Autism Risk: Potential Mechanisms Linking Pesticides and Autism *Environ Health Perspect.* (2012); 120(7): 944–951
- 45) Grandjean P, Landrigan PJ. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 2006;368:2167–2178
- 46) Grandjean P, Landrigan PJ. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol* 2014;13:330-38.
- 47) Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Harley K, Barr DB, Johnson C, et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect.* (2007); 115:792–798
- 48) Whyatt RM, Barr DB, Camann DE, Kinney PL, Barr JR, Andrews HF, Hoepner LA, Garfinkel R, Hazi Y, Reyes A, Ramirez J, Cosme Y, Perera FP. Contemporary-use pesticides in personal air samples during pregnancy

- and blood samples at delivery among urban minority mothers and newborns *Environ Health Perspect.* 2003 May;111(5):749-56; Whyatt RM, Camann D, Perera FP, Rauh VA, Tang D, Kinney PL, Garfinkel R, Andrews H, Hoepner L, Barr DB Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005 Aug 7;206(2):246-54
- 49) Rauh VA, Garfinkel R, Perera FP, Andrews HF, Hoepner L, Barr DB, Whitehead R, Tang D, Whyatt RW. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics.* (2006);118(6):e1845-59
- 50) Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, Weisskopf MG. Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides *Pediatrics.* (2010);125(6):e1270-7
- 51) Bouchard MF, Chevrier J, Harley KG, Kogut K, Vedar M, Calderon N, Trujillo C, Johnson C, Bradman A, Barr DB, Eskenazi B Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children *Environ Health Perspect.* 2011 Aug;119(8):1189-95. doi: 10.1289/ehp.1003185. Epub 2011 Apr 13
- 52) Engel SM, Wetmur J, Chen J, et al. Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood *Environ Health Perspect* 2011 Aug; 119(8) :1182-8
- 53) Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB, Whyatt R. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide *Environ Health Perspect.* 2011 Aug;119(8):1196-201. doi: 10.1289/ehp.1003160. Epub 2011 Apr 12.
- 54) Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 2005;308:1466–1469; Anway MD, Leathers C, Skinner MK. Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease. *Endocrinology* 2006;147:5515–5523.
- 55) Birnbaum LS, Fenton SE. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors *Environ Health Perspect.* 2003 ;111(4):389-94.
- 56) Rudel RA, Attfield KR, Schifano JN, Brody JG. Chemicals causing mammary gland tumors in animals signal new directions for epidemiology, chemicals testing, and risk assessment for breast cancer prevention. *Cancer* (2007);109:263566; Hiatt RA, Haslam SZ, Osuch J, on Behalf of the Breast Cancer, the Environment Research Centers (2009). *The Breast Cancer and the Environment Research Centers: Transdisciplinary Research on the Role of the Environment in Breast Cancer Etiology.* *Environ Health Perspect* 117:1814-1822; Soto AM, Sonnenschein C. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens *Nat Rev Endocrinol.* (2010);6(7):363-70.
- 57) Beketov MA, Kefford BJ, Schäfer RB, Liess M. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Jul 2;110(27):11039-43.
- 58) McKinlay R, Plant JA, Bell JN, Voulvoulis N. Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. *Environ Int.* 2008 Feb;34(2):168-83.
- 59) Baltazar MT, Dinis-Oliveira RJ, de Lourdes Bastos M, Tsatsakis AM, Duarte JA, Carvalho F. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases-A mechanistic approach *Toxicol Lett.* 2014 Feb 3. pii: S0378-4274(14)00059-9. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.01.039.
- 60) Shelton JF, Geraghty EM, Tancredi DJ, Delwiche LD, Schmidt RJ, Ritz B, Hansen RL, Hertz-Picciotto I. Neurodevelopmental Disorders and Prenatal Residential Proximity to Agricultural Pesticides: The CHARGE Study. *Environ Health Perspect.* 2014 Jun 23.
- 61) McKinlay, R., Plant, J.A., Bell, J.N.B., Voulvoulis, N. Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. *Environment international* 2008; 34(2):168-83.

Giovanni Beghini

**Abstract**

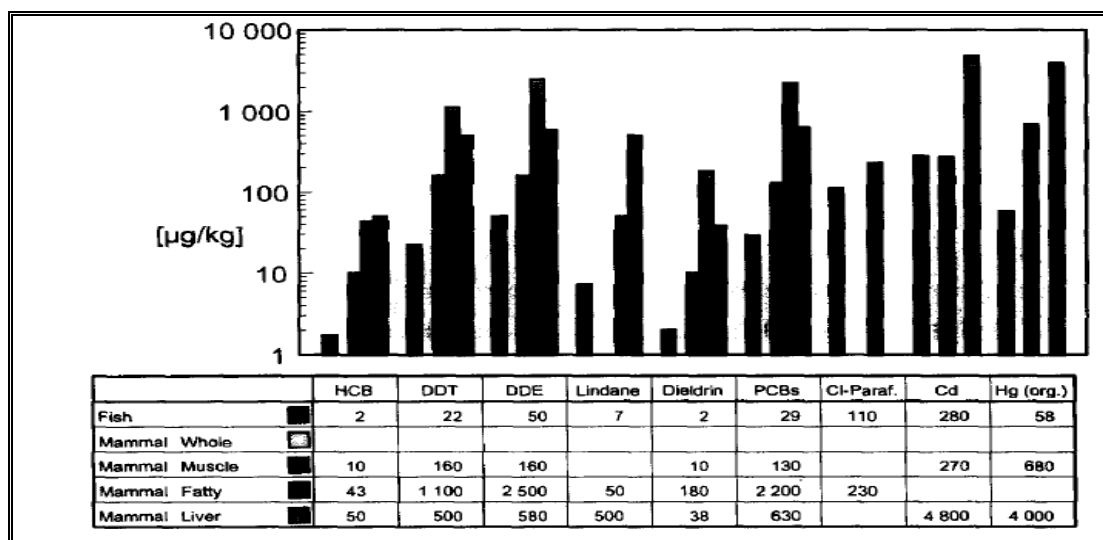
In questa rassegna di articoli si cercano di esaminare gli ultimi importanti lavori che parlano dei pesticidi nelle catene alimentari. Si distinguono i meccanismi delle catene terrestri e delle catene marine, si studiano i coefficienti di bioaccumulo e biomagnificazione. Si cerca di indicare quali sono le istituzioni grandi e piccole che regolano la materia e quali siano i principi che le ispirano.

Vengono poi passati in rassegna alcuni articoli sul tema, cercando quelli più recenti e di origine la più vasta. Si conclude con alcune personali osservazioni sulla materia.

**Bioaccumulo e biomagnificazione**

Le pietre miliari da cui partire per svolgere questo tema sono le due famose relazioni di ISPRA, Pesticidi nelle acque Italiane (1) e il report annuale di Legambiente, Pesticidi nel piatto (2), la cui attendibilità è assodata da indagini attuate in altri paesi europei, come la Francia (3), dove i referti sono sostanzialmente sovrapponibili. Dall'acqua o direttamente dai prodotti agricoli, attraverso vie dirette o indirette la penetrazione nella catena alimentare è inevitabile e progressiva. Il passaggio attraverso la via acqua o la via terrestre comporta diverse modalità di concentrazione, come un diverso numero di passaggi. Vediamo due esempi. Sappiamo da precedenti ricerche che nell'acqua marina la concentrazione di DDT è di una p.p.m. e che ogni successivo passaggio nella catena alimentare ha un fattore di Biomagnificazione che si stima uguale a 10. Uno studio (4) analizza dettagliatamente il potenziale di avvelenamento secondario e il fattore di biomagnificazione di metalli pesanti, PCB e pesticidi organo clorurati (prodotti di metabolizzazione del DDT) negli organismi marini. Come riportato in Figura 1 c'è un progressivo aumento della concentrazione di HCB, di DDT e delle altre sostanze esaminate con la differenza che vediamo.

Figura 1: Esempio di Biomagnificazione



Uno studio canadese (5) analizza il Fattore Volumetrico di Bioconcentrazione (BCFv) e di Biomagnificazione di alcuni pesticidi di uso corrente nella catena terrestre: Aria>Vegetazione >Caribù>Lupo. Risulta che il fattore di biomagnificazione non è uguale a 10 per ogni passaggio, è inferiore e varia, ma la carne del lupo è al vertice della concentrazione. Un altro autore (6) affronta con rigore il problema della diversità dei parametri di bioaccumulo e biomagnificazione tra l'ambiente marino e l'ambiente terrestre e quindi della necessaria diversità dei meccanismi di prevenzione e di

controllo dei danni. Nell'articolo, studiando il modello suolo-verme-toporagno afferma che dipende dal coefficiente di ripartizione ottanolo-aria.

Forse l'articolo più esemplare (7) che spiega i tempi, i modi e le quantità delle contaminazioni delle catene alimentari è il seguente, di cui riporto solo due Figure molto significative, e che riguarda non i pesticidi ma il metilmercurio, il disastro successo nella baia di Minamata negli anni '50.

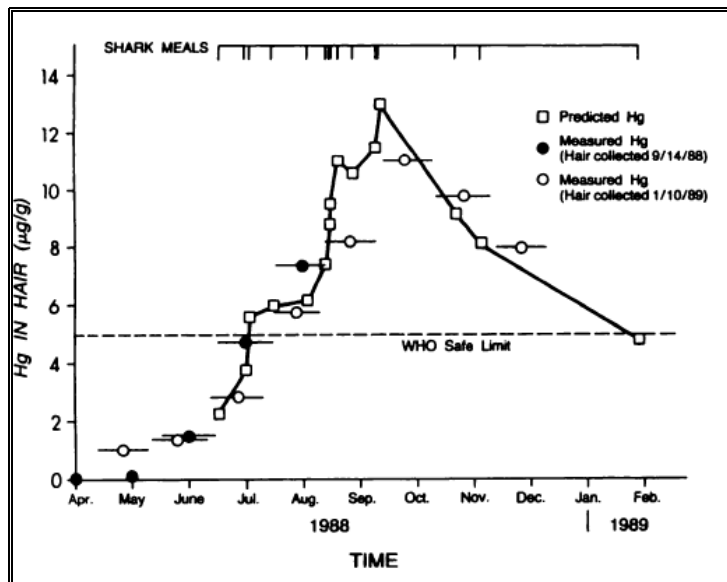
Figura 2: Differenze di concentrazione di sostanze tossiche in base all'alimentazione 1

POPULATION	LOEL		EFFECTS
	HAIR μg Hg/g	BLOOD μg Hg/L	
ADULT	50	200	PARESTHESIA
PRENATAL	20	80	PSYCHOMOTOR RETARDATION
	10	40	
NON FISH EATERS	1	4	

La concentrazione di metilmercurio nel sangue è 4 volte più alta che nei capelli dei consumatori di pesce. L'esposizione nella vita adulta da sintomi neurologici, mentre nella vita fetale da ritardo psicomotorio.

Nella Figura 3 risulta evidente la relazione tra l'assunzione di pesce e la quantità di mercurio trovato nel sangue.

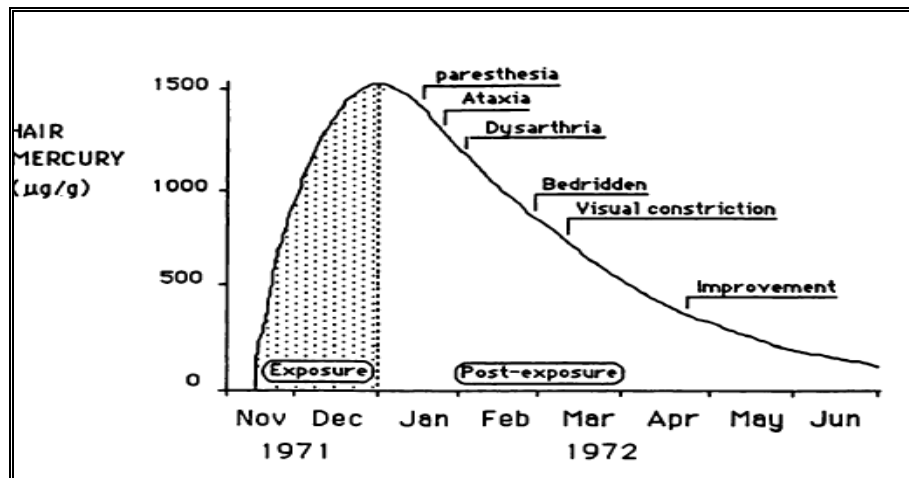
Figura 3: Differenze di concentrazione di sostanze tossiche in base all'alimentazione 2



Nell'ultimo grafico si vede la relazione tra la concentrazione di mercurio nei capelli e la comparsa e la persistenza dei sintomi neurologici della popolazione studiata.



Figura 4: Tempi di esposizione, tempo di comparsa e di scomparsa



### Organi Internazionali e Nazionali Legislativi e di Controllo

Cerco ora di rendere accessibile la comprensione dei meccanismi, delle istituzioni, dei principi (e delle sigle) che definiscono, regolano, controllano il “food trade”, come è definito dagli stessi organismi. Il documento da cui partire è il “Codex Alimentarius” (8), pubblicazione emanata della FAO in collegamento con WHO. E’ una corposa pubblicazione che resta molto sulle generali, contiene le linee guida e definisce tutte le commissioni incaricate di responsabilità, le sedi e le competenze di ogni commissione. C’è solo un breve accenno ai “contaminanti” (non viene mai usata la parola “pesticidi” o “agro farmaci”), che stabilisce per un “Safety assessment” questi principi: 1) la determinazione di NOEL (No Observed Effect Level) di qualsiasi agente chimico, fisico o biologico che deve essere fatta in studi su animali di laboratorio e corrisponde alla dose con cui non si vede alcun effetto tossico, 2) la successiva definizione di ADI (Daily Tolerable Intake) la dose giornaliera che può essere assunta senza presentare effetti tossici, 3) allora, valutando le diete e le percentuali di pesticidi presenti si definisce la EDI (Estimable daily intake) e se questa fosse inferiore alla ADI, secondo questo ragionamento meccanicistico, non ci sarebbe nessuna tossicità.

Il documento successivo è il FAO Panel (9) che definisce meglio le quantità di pesticidi nel Joint FAO/WHO Meetings on Pesticide Residues (JMPR) nel settembre 2013 (10). Altri parametri o sigle relative sono:

- International estimated daily (IEDIs)
- Maximum Residue Level (MRL)
- Supervised Trials Median Residue values (STMRS)
- Highest residues (HRs).

L’organismo europeo principale è l’EFSA, poi abbiamo le ARPA ed i SIAN a livello di ASL. I sindaci, secondo l’articolo 32 della costituzione sono i responsabili sul territorio della salute pubblica.

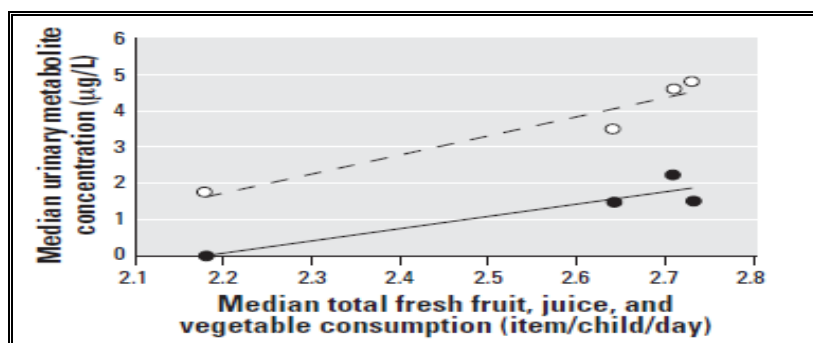
### Rassegna di studi

I primi che hanno parlato di catene alimentari in modo approfondito sono studi fatti nel 1984 (11) e 1995 (12).

I criteri di scelta degli articoli sono la data recente e la provenienza, cercando di privilegiare anche i paesi più “lontani”

Fra i molti studi (per es. Aprea et al, 13) che mettono in evidenza la fondamentale importanza dell’introduzione dei pesticidi organofosforici nell’organismo umano attraverso la catena alimentare riporto il seguente (14) dell’Università di Atlanta, USA, su 23 bambini, seguiti per un anno, abitanti in zone urbane. Si sono fatti dosaggi nelle urine dei principali organo fosforici (OP) due volte al giorno per 15 gg ogni stagione in bambini che si nutrono con dieta tradizionale. Ogni stagione sono stati nutriti per 5 giorni con dieta “organica” e la presenza dei metaboliti degli OP si abbassava e, a seconda del tipo, andava quasi a zero. La figura riporta in modo evidente come la quantità di metaboliti sia proporzionale al consumo di frutta dei bambini.

Figura 5: The correlation of the median DVWA of MDA and TCPy concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) and the median consumption (per child per day) of total fresh fruits, juices, and vegetables for each of the four seasons. Solid line, MDA ( $y = 4.0963x - 10.405$ ;  $R_2 = 0.9311$ ).



La conclusione dell'articolo è che il maggior apporto di pesticidi nei bambini avviene attraverso la dieta.

Un altro studio che voglio segnalare (15) cerca i fattori predittivi della alta concentrazione di pesticidi organoclorurati (esaclorobenzene, beta esaclorocicloesano, e diclorodifenilcicloetilene-DDE) nelle urine di 500 bambini russi in età prepuberale, fra il 2003 ed il 2005. Si analizzarono lo stato di salute, il sangue, lo stile di vita, le abitudini alimentari e la distanza della residenza da una fabbrica locale di OP a Chapavesk, Russia. Un basso indice di massa corporea, un lungo allattamento al seno, il consumo di latticini locali, la distanza da una fabbrica locale che li produce ed il basso grado di istruzione dei genitori. sono risultati essere fattori predittivi di una alta concentrazione di pesticidi nel sangue. In questo caso quindi sono più implicati i grassi animali che i vegetali, per la natura chimica delle sostanze, infatti gli organoclorurati sono più liposolubili, persistenti (POPs) e soggetti al bioaccumulo. Anche le contaminazioni per via respiratoria o cutanea sono da considerare.

Da segnalare nella tabella successiva la altissima concentrazione rispetto a bambini analizzati in altri paesi.

Tabella 1: Median OCP concentrations (ng/g lipid) in 8- to 9-year-old boys in the Russian Children's Study compared with other pediatric studies.

Country	Year	n	Age range (years)	Population	HCB	$\beta$ -HCH	$p,p'$ -DDE
Russia (current study)	2003–2005	355	8–9	Boys	158	167	284
USA (NHANES) <sup>a</sup>	2003–2004	588	12–19	Boys and girls	13.4	< LOD	93.6
Belgium <sup>b</sup>	2003–2004	1,679	14–15	Boys	22.8	—	104
Faroe Islands <sup>c</sup>	1986–1987	788	14	Boys and girls	—	—	467
Slovakia <sup>d</sup> (contaminated Michalovce district)	2001	216	8–10	Boys and girls	79.6	—	344

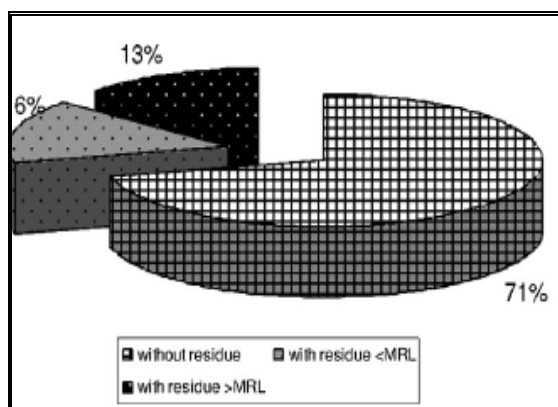
Abbreviations: —, OCP not measured; NHANES, National Health and Nutrition Examination Survey. LOD = 7.8 ng/g lipid.  
<sup>a</sup>Patterson et al. (2009). <sup>b</sup>Den Hond et al. (2011). <sup>c</sup>Barr et al. (2006). <sup>d</sup>Petrik et al. (2006).

Un articolo che mi sembra interessante segnalare per la sua “ingenuità”(15) è del Kazakistan e di fronte alla presenza di superamenti dei LMR del 7% afferma che “...la protezione dei cereali, nei campi e nei magazzini deve essere fatta nella maniera migliore senza superare gli LMR, così da non causare danni alla salute umana ed animale. Assicurare salute ai cereali è una assoluta priorità nella produzione dei raccolti...” Non viene accennato ai rischi per la salute umana, viene mandato un messaggio rassicurante, si mette il prodotto al primo posto anche da parte della scienza.

Tabella 2: Health risk estimation for chronic effects associated with average pesticide residue concentrations

Pesticides	Commodity	RL (mg kg <sup>-1</sup> )	ADI (×10 <sup>-3</sup> mg kg bw <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	Source	EDI (×10 <sup>-3</sup> mg kg bw <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	HQ (%)	cHI (%)
Aldrin	Wheat	0.00666	0.1	JMPR 1994	0.789	789.0	789.0
p,p'-DDT	Wheat	0.01222	10.0	JMPR 2000	1.448	14.5	14.5
o,p'-DDT	Wheat	0.01000	10.0	JMPR 2000	1.185	11.8	11.8
o,p'-DDE	Wheat	0.00756	10.0	JMPR 2000	0.895	9.0	9.0
γ-HCH	Wheat	0.00756	5.0	JMPR 2003	0.895	17.9	17.9
							Sum HQ 789 + 53.2
Chlorpyrifos methyl	Wheat	0.01044	10.0	Dir 05/72	1.237	12.4	
	Oat	0.00600	10.0	Dir 05/72	0.007	0.1	
	Barley	0.06333	10.0	Dir 05/72	0.232	2.3	14.8
Diazinon	Barley	0.02067	0.2	EFSA 06	0.076	37.9	37.9
Malathion	Wheat	0.01156	30.0	EFSA 06	1.369	4.6	4.6
Pirimiphos methyl	Wheat	0.01622	4.0	EFSA 05	1.922	48.0	
	Rye	0.01067	4.0	EFSA 05	0.072	1.8	49.8
							Sum HQ 107.1
Cypermethrin	Oat	0.01267	20.0	Dir 05/53	0.015	0.1	0.1
Deltamethrin	Wheat	0.01022	10.0	Dir 03/5	1.211	12.1	12.1
							Sum HQ 12.2
Tebuconazole	Wheat	0.01533	30.0	EFSA 08	1.8172	6.1	6.1
							Sum HQ 6.1

Figura 6: Campioni di frumento = 45



In questo altro articolo (17) del 2005 vengono testati i livelli di pesticidi organo clorurati nella popolazione delle Isole Canarie. Questi pesticidi furono definitivamente ritirati dal commercio tra il 1970 e l'80. La popolazione urbana presentò i più alti livelli di dieldrin, mentre la popolazione non urbana ebbe i più alti valori di lindane, aldrin ed endrin. Ma la cosa più allarmante fu che i soggetti con età inferiore ai 18 anni mostravano un livello serico di lindane, aldrin e dieldrin almeno doppio dei soggetti di 65-75 anni.

I paesi africani vivono in maniera ancora più drammatica il problema (18). Si calcola che almeno 50.000 tonnellate di organo clorurati obsoleti siano presenti in ambiente, e che entrano nelle catene alimentari così che l'ASP (Africa Stockpiles Program) ha distrutto enormi quantità di pesticidi in molti paesi (Egitto Namibia, Niger, Senegal, Seychelles, South Africa, Sudan, Tanzania, Uganda, Zambia). L'obiettivo è di ridurre ulteriormente le quantità, non usare la combustione come metodo e usare altre pratiche per ridurre le malattie trasmesse da vettori.

Mentre una metanalisi di 600 articoli con 40000 citazioni condotta da tecnici dell'EFSA (19) ritiene associazioni positive con l'esposizione ai pesticidi solo la leucemia infantile e la malattia di Parkinson, uno studio epidemiologico italiano (20) del 2009 su 80 donne con tracce nel sangue di organoclorurati e 78 controlli riconosce fra le cause multifattoriali dell'endometriosi anche l'esposizione ambientale agli organo clorurati. Un altro studio (21) su donne incinte con tracce di organo clorurati evidenzia che il peso alla nascita del feto è inversamente proporzionale alla presenza dei suddetti composti nel sangue del cordone ombelicale. In entrambe le situazioni le donne reclutate negli studi erano abitanti di città, non esposte quindi direttamente ai pesticidi ma solo attraverso la catena alimentare.

Un grande studio cinese (22) del 2012 (in cui si afferma che la Cina usa 300.000 tonnellate/anno di pesticidi, mentre nella piccola Italia se ne usano 150.000) si analizzano gli effetti sul comportamento e

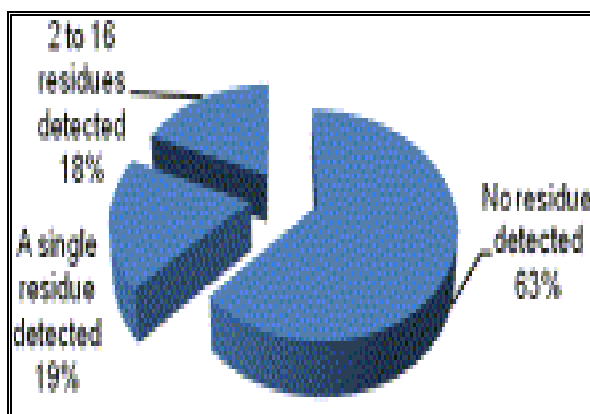
lo sviluppo neurologico di neonati di madri esposte durante la gravidanza a insetticidi organo fosforici. Gli autori affermano che gli OP possono attraversare la placenta (23), (24), che i feti sono più vulnerabili agli OP (24). Che l'esposizione anche a bassi livelli di OP può influenzare il comportamento emotivo (26) e lo sviluppo delle cellule neuronali attraverso una varietà di meccanismi non colinergici come la interferenza con vari processi cellulari fino alla regolazione dei neurotrasmettitori della serotonina e per stress ossidativo. Il 70% delle madri consumava frutta e verdura fresche tutti i giorni durante la gravidanza, fatto che suggerisce che la via di assorbimento sia attraverso la dieta. Gli autori trovano una associazione inversa tra i metaboliti urinari di OP delle madri durante la gravidanza e il NBNA (valutazione a punti del neuro comportamento neonatale). Fra tutti i potenziali fattori di rischio neonatale (età materna, livello di istruzione, fumo passivo, BMI prenatale, concentrazione ematica del piombo) l'esposizione agli OP durante la gravidanza risulta essere il fattore predominante.

Non solo nei campi prima del raccolto vengono usate grandi quantità di pesticidi ma anche dopo il raccolto. Uno studio (27) riporta quante e quali sostanze sono applicate dopo il raccolto e che si trovano in limoni, mele, manghi, drupacee, fragole, banana, kiwi, avocado, frutti minori, peperoni, pomodori e tanti altri. Sono stati trovati i fungicidi benomyl, biphenyl, sec-butylamine, captan, carbendazim, dicloran, fosetyl-aluminum, guazatine, imazalli, iprodione, metalaxyl, o-phenylphenol, prochloraz, thiabendazole, thiophanate-methyl, triadimetton, vinclozolin, i fumiganti ethylene dibromide, methyl bromide, e sulfur dioxide, gli insetticidi dimethoate e fenthion, gli antiscottature diphenylamine e ethoxyquin, e i regolatori della crescita 2,4-D e daminozide.

### Studi sull'assorbimento nelle diete intere

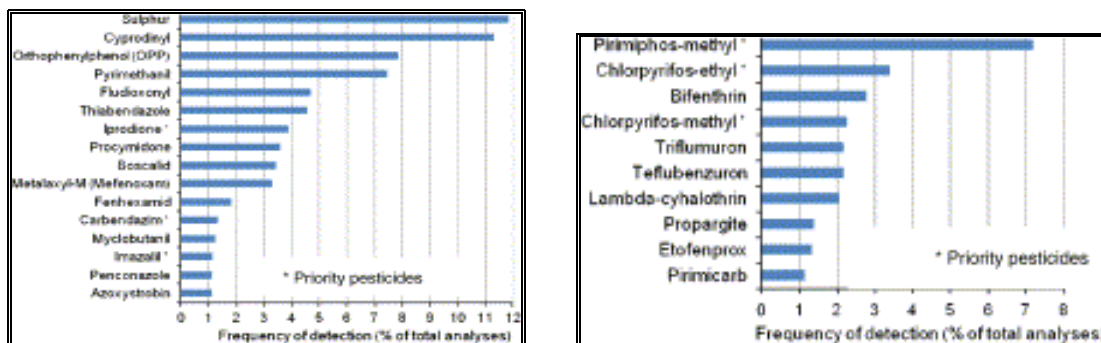
E veniamo agli studi che parlano di quanti pesticidi sono effettivamente trovati nei cibi. I più importanti sono due, uno francese (3) ed uno italiano. Nel primo si studia l'esposizione cronica a residui di pesticidi attraverso la dieta della popolazione francese tenendo realisticamente conto dei pasti consumati in casa dalla popolazione. Sono stati visti 1235 singoli ingredienti componenti di 194 piatti che rappresentano il 90% della dieta dal 2007 al 2009 in 36 città francesi. Nel 37% degli esempi furono trovati pesticidi, in numero di 325 diverse sostanze, 55 di essi a livelli compresi tra 0.003 to 8.7 mg/kg. I più frequentemente trovati sono gli insetticidi pirimiphos-methyl and chlorpyrifos-methyl, particolarmente nei prodotti a base di grano e chlorpyrifos, iprodione, carbendazim e imazalil, principalmente in frutta e succhi di frutta, il cui uso è permesso in Europa.

Figura 7: Percentuale di cibi con residui di pesticide (3)



Sono stati immaginati due scenari uno che sovrastima l'esposizione ed uno che la sottostima. Nel primo un rischio cronico non è escluso per nove pesticidi, nel secondo solo per il dimetoato nei forti consumatori di frutta.

Figura 8: Vedi Bibliografia (3)



Sostenendo che ulteriori studi sono necessari gli autori sottolineano che non sono considerati nelle somme i pesticidi eventualmente contenuti in tracce nelle acque.

Il secondo è lo studio italiano di Lorenzin (28), che nel 2005 testa la quantità di residui nei vegetali e nei loro derivati olio, vino e succhi di frutta. Un pranzo tipico medio, composto di primo, contorno, frutta, pane e vino viene analizzato, sommati i residui contenuti e confrontati con la ADI (acceptable dietary intake). Su 50 pasti 39 contengono pesticidi con una media di 2,4 per pasto, con un massimo di 10 per un pasto. I più frequentemente trovati sono: pirimiphos-methyl (20 volte), procymidone (17), pyrimethanil (7), iprodione (7), cyprodinil (7), fenitrothion (6), diphenylamine (6), chlorpyrifos (6), metalaxyl (5) e chlorpyrifos-methyl (5).

Ecco come sono distribuiti nei vari piatti di un pasto:

Table 3: Average quality of pesticides found in the meal

First Course (mg)	Side dish (mg)	Fruit (mg)	Bread (mg)	Wine (mg)	Complete Meal (mg)
0.108 (3.0%)*	0.076 (2.1%)*	2.828 (77.3%)*	0.101 (2.8%)*	0.543 (14.9%)*	3.656 (100%)*

\*The figure in brackets is the quantity of pesticides as a percentage of the quantity found in the complete meal.

Table 4: Ratio of the daily intake per kg of body weight and acceptable daily intake (ADI) levels established by the European Union in document 3010

	Maximum (%)	Average (%)	Median (%)	Number of values over 100%	Number of values over 50%	Number of values over 10%	Number of values over 1%
Adult* (60 kg)	73.3	2.6	0.4	0	2	6	37
Teenager** (40 kg)	109.9	4.9	0.6	1	2	7	34
Child** (20 kg)	219.9	9.8	1.2	2	5	14	46

\*Comparison between the daily intake per kg of body weight and the ADI was carried out 121 times for an adult.  
\*\*Comparison between the daily intake per kg of body weight and the ADI was carried out 84 times (wine was not considered) for a teenager and a child.

Se nell'adulto il valore è il 73% della ADI nel bambino il valore è 219,9%!

Table 5: Results for the Italian Ready-Meal Residue Project with calculation of the daily intake for an adult of 60 kg and acceptable daily intake (ADI) levels established by the European Union

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
4	13	thiabendazole	0	0	3.309	0	0	0.003309	0.006618	0.0001103	0.1	0.11
4	14	iprodione	0	0	0	0	22.5	0.0225	0.045	0.00075	0.06	1.25
4	14	metalaxyl	0	0	0	0	20	0.02	0.04	0.0006667	0.08	0.83
4	14	procymidone	0	0	0	0	20	0.02	0.04	0.0006667	0.1	0.67
4	15	bromopropylate	0	0	0.0485	0	0	4.851E-05	9.7E-05	1.617E-06	0.03	0.01
4	15	cyprodinil	0	0	0	0	0.175	0.000175	0.00035	5.833E-06	0.03	0.02
4	15	pirimiphos-methyl	0	0	0	0.7315	0	0.0007315	0.001463	2.438E-05	0.03	0.08
4	15	procymidone	0	0	0	0	7.5	0.0075	0.015	0.00025	0.1	0.25
4	15	pyrimethanil	0	0	0	0	0.275	0.000275	0.00055	9.167E-06	0.17	0.01

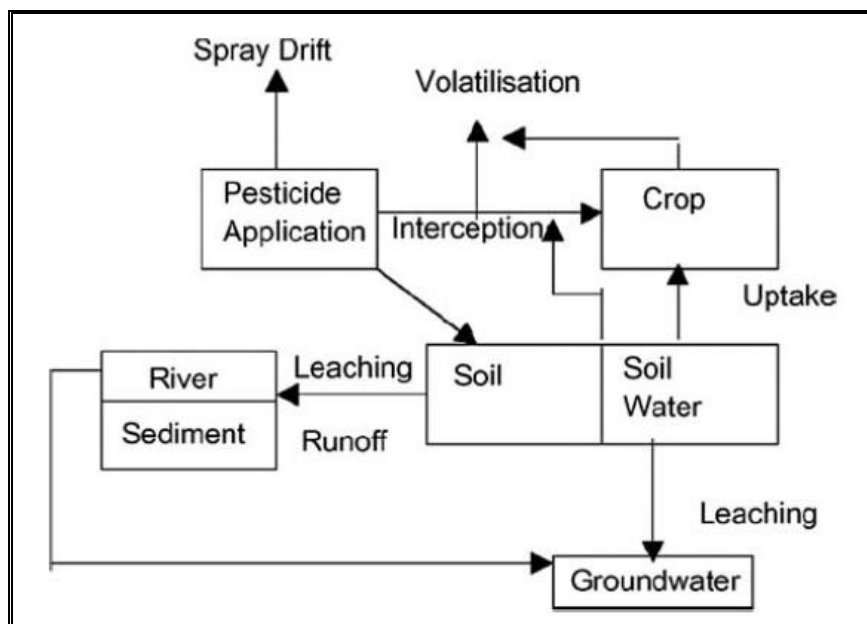
(1) Sample; (2) Laboratory code; (3) Pesticide; (4) Quantity of pesticide in first course in  $\mu\text{g}$ ; (5) Quantity of pesticide in side dish in  $\mu\text{g}$ ; (6) Quantity of pesticide in fruit in  $\mu\text{g}$ ; (7) Quantity of pesticide in bread in  $\mu\text{g}$ ; (8) Quantity of pesticide in wine in  $\mu\text{g}$ ; (9) Quantity of pesticide in meal in mg; (10) Daily quantity (two meals) of pesticide in mg; (11) Daily intake per kg of body weight in mg/kg bw; (12) Acceptable daily intake ADI in mg/kg bw; (13) Relationship between daily intake per kg of body weight and acceptable daily intake (ADI) in %.

In questa tabella si nota di come il vino sia uno dei cibi che hanno la maggior quantità di residui, nonostante la fermentazione ne abbatta di molto la concentrazione e prendano la via della feccia. Interessante anche confrontare i punti 12 e 13 che mostra come per alcuni pesticidi la dose giornaliera sia abbondantemente superata.

Un articolo dell'università di Singapore (29) studia con biopsie la presenza di organo clorurati (OC) nel tessuto adiposo e nel tessuto muscolare di 36 persone. Gli OC sono presenti in 35 su 35 esempi e la presenza nel muscolo è proporzionale alla quantità presente nel grasso.

Un articolo spagnolo del 2011 (30) che studia il destino dei pesticidi nell'ambiente inizia così: "solo l'assorbimento di dosi tossicologicamente significative può portare ad effetti avversi per la salute anche per una sostanza relativamente tossica...il problema è per primo come determinare la presenza e la quantità di un determinato inquinante nei cibi e secondo come determinare per un singolo cibo l'inquinante rilevato.

Figure 9: Pathways of a pesticide applied to a crop- ideally, at least one include its contact with targeted pest



Pur non condividendo l'introduzione lo schema sopra mostrato è esemplificativo del destino ubiquitario dei pesticidi prima che entrino nelle catene alimentari.

Non abbiamo parlato finora del glifosate nella catena alimentare. Esso, come scritto in un capitolo specifico di questa pubblicazione dove consultare anche la bibliografia, viene immesso forzatamente

nella catena alimentare sia attraverso gli OGM sia per l'uso diffuso di essiccare i prodotti (26) prima del raccolto con esso, per facilitare il trasporto e la lavorazione dei prodotti

### Spunti di criticità

Alcune considerazioni alla fine di questa piccola rassegna.

1) *Multi residui*. Non viene preso in considerazione in nessun studio, proprio perché manca fin dal principio, dal Codex Alimentarius in poi, il pensiero che la esposizione a più residui non è uguale alla somma degli effetti di ognuno ma può essere ben più dannosa. Sia per effetti sinergici sconosciuti fra gli xenobionti sia perché se una via metabolica di disintossicazione è impegnata non può impegnarsi con un'altra sostanza con la stessa efficacia. Quindi gli LMR dovrebbero essere completamente rivisti.

2) *Principio di precauzione*. Esso viene costantemente dimenticato dalle istituzioni preposte al controllo, che limitano a rispettare gli LMR come se questo fosse sufficiente, senza pensare a tutte le altre forme di inquinamento cui ogni essere è sottoposto. La tendenza dovrebbe essere di graduale e progressiva diminuzione degli LMR, vista la cronicità dell'esposizione ma non è così. Una sostanza riconosciuta cancerogena dovrebbe essere semplicemente eliminata perché anche solo una molecola può essere attiva.

3) *Interferenti Endocrini*. L'attuale sistema dei calcoli dei limiti delle sostanze si basa sul vecchio principio secondo cui è la dose che fa il veleno mentre per gli interferenti endocrini non è assolutamente così, essi agiscono in dosi bassissime, con meccanismo ormonale e possono anche a queste dosi provocare danni enormi anche con meccanismi epigenetici.

4) *Studi*. Tre problemi riguardo agli studi scientifici. Il primo è che gli studi epidemiologici hanno fatto il loro tempo, dopo averci fornito una quantità enorme di informazioni. Essi sono in grado di dimostrare dopo 20 o 30 anni di esposizione ad un prodotto che questo è tossico ma ora succede che questi prodotti diventano obsoleti prima di questa dimostrazione. Infatti le aziende produttrici li ritirano dal commercio perché ne mettono sul mercato altri a loro più redditizi. Secondo che la qualità degli studi proposti dalle aziende per le autorizzazioni sono di scarsa qualità, porto ad esempio che per il glifosate sono stati presentati studi di 13 settimane mentre lo studio di Seralini è durato 100 settimane, inoltre molti dati possono essere occultati. Altro problema sono gli studi su animali, ci si chiede quanto siano attendibili oltre che legittimi.

5) *OGM*. I pesticidi stanno agli OGM in maniera direttamente proporzionale, sia nei danni alla salute sia nei danni all'agricoltura, alla fertilità ed alla biodiversità, sia negli interessi delle multinazionali.

6) *Effetti sui bambini*. (31) Gli LMR degli adulti non dovrebbero neanche esistere, il bene più prezioso, da essi dimenticato, sono loro, ed essi respirano di più, mangiano di più, hanno vie metaboliche di disintossicazione non ancora completamente formate e hanno una aspettativa di vita (ed un periodo di esposizione), molto più lungo.

7) *Nuova agricoltura*. L'agricoltura è definita il settore primario ed il suo ruolo è primario anche nella prevenzione e nel miglioramento della qualità di salute dell'ambiente e quindi dei suoi abitanti. In questi giorni anche il parlamento olandese, dopo quello danese e Sri Lankese hanno ritirato dal commercio il glifosate, alcuni sindaci italiani hanno preso decisioni cariche di responsabilità verso l'uso dei pesticidi e speriamo siano seguiti da altri, mentre auspico che i PSR siano indirizzati solamente alle aziende che non usano prodotti tossici

### Bibliografia

- 1) Rapporto Ispra 2012 "Pesticidi nelle acque italiane"
- 2) Legambiente, Pesticidi nel piatto, rapporto 2012
- 3) Total diet study on pesticide residues in France: Levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers - Alexandre Nougadère, Véronique Sirot, Ali Kadar, Antony Fastier, Eric Truchot, Claude Vergnet, Frédéric Hommet, Joëlle Baylé, Philippe Gros, Jean-Charles Leblanc. Environment International journal homepage: [www.elsevier.com/locate/envint](http://www.elsevier.com/locate/envint)
- 4) Chemosphere. 1997 Nov; 35(9):1875-85. Potential for secondary poisoning and biomagnification in marine organisms. Nendza M1, Herbst T, Kussatz C, Gies A.
- 5) Environ Toxicol Chem. 2014. Jun 27. doi: 10.1002/etc.2634. [Epub ahead of print] Trophodynamics of current use pesticides and ecological relationships in the Bathurst region vegetation-caribou-wolf food chain of the Canadian Arctic. Morris AD1, Muir DC, Solomon KR, Teixeira C, Duric M, Wang X.
- 6) Environ Sci Technol. 2007. Jun 1; 41(11):4019-25. A terrestrial food-chain bioaccumulation model for POPs. Armitage JM1, Gobas FA.



7) Environmental contaminants in the food –chain, Downloaded from [ajcn.nutrition.org](http://ajcn.nutrition.org) by guest on September 23, 2014, by Thomas W. Clarkson

8) Secretariat of the Codex Alimentarius Commission Joint FAO/WHO Food Standards Programme Food and Agriculture Organization of the United Nation.

9) <http://www.fao.org/agriculture/crops/corethemes/theme/pests/pm/jmpr/jmpr-docs/en/>

10) <http://www.fao.org/agriculture/crops/corethemes/theme/pests/pm/jmpr/jmprmeet/en/>  
<http://www.who.int/foodsafety/chem/jmpr/data/en/index.html>

11) *Environ Health Perspect.* 1984 Mar; 54:353-71. State of research: environmental pathways and food chain transfer. Vaughan BE.

12) *Am J Clin Nutr.* 1995 Mar; 61(3 Suppl):682S-686S. Environmental contaminants in the food chain. Clarkson TWA.

13) Aprea C, Strambi M, Bovelli MT, Lunghini L, Bozzi N. 2000. Biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children. *Environ Health Perspect* 108:521–525.

14) Dietary Intake and Its Contribution to Longitudinal Organophosphorus Pesticide Exposure in Urban/Suburban Children - Chensheng Lu,<sup>1</sup>; Dana B. Barr,<sup>2</sup>; Melanie A. Pearson,<sup>1</sup>; and Lance A. Waller<sup>3</sup>; <sup>1</sup>Department of Environmental and Occupational Health, Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta, Georgia, USA; <sup>2</sup>National Center for Environmental Health, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA; <sup>3</sup>Department of Biostatistics, Rollins School of Public Health, Emory University, Atlanta, Georgia, USA.

15) Predictors of Serum Chlorinated Pesticide Concentrations among Prepubertal Russian Boys - Thuy Lam; Paige L. Williams; Jane S. Burns; Oleg Sergejev; Susan A. Korrick; Mary M. Lee; Linda S. Birnbaum; Boris Revich; Larisa M. Altshul; Donald G. Patterson Jr.; Wayman E. Turner; and Russ Hauser.

16) Pesticide residues in grain from Kazakhstan and potential health risks associated with exposure to detected pesticides - B. Lozowicka, P. Kaczynski, A.E. Paritova, G.B. Kuzembekova, A.B. Abzhalieva, N.B. Sarsembayeva, K. Alihan, *Food and Chemical Toxicology*.

17) Increasing serum levels of non-DDT-derivative organochlorine pesticides in the younger population of the Canary Islands (Spain) O.P. Luzardo a,d, M. Goethals a,d, M. Zumbado a,d, E.E. Álvarez-León b,d, F. Cabrera a,d, Ll. Serra-Majem b,c,d, L.D. Boada a,d, *Science of the Total Environment* 367 (2006) 129-138.

18) *Hum Exp Toxicol.* 2009 Sep;28(9):531-66. doi: 10.1177/0960327109347048. Epub 2009 Sep 18. Persistent organic pollutants (POPs) in Africa: Egyptian scenario. Mansour SA.

19) European Food Safety Authority, 2013 – External Scientific Report - Literature review on epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects. Evangelia E Ntzani, Chondrogiorgi M, Ntritsos G, Evangelou E, Tzoulaki I. Department of Hygiene and Epidemiology, University of Ioannina Medical School, Ioannina, Greece.

20) *Environ Health Perspect.* 2009 Jul; 117(7):1070-5. doi: 10.1289/ehp.0800273. Epub 2009 Mar 31. Endometriosis and organochlorinated environmental pollutants: a case-control study on Italian women of reproductive age. Porpora MG1, Medda E, Abballe A, Bolli S, De Angelis I, Di Domenico A, Ferro A, Ingelido AM, Maggi A, Panici PB, De Felip E.

21) *Sci Total Environ.* 2011 Jul 1; 409(15):2888-93. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.04.031. Persistent organochlorine compounds in fetal and maternal tissues: evaluation of their potential influence on several indicators of fetal growth and health. Bergonzi R, De Palma G, Specchia C, Dinolfo M, Tomasi C, Frusca T, Apostoli P.

22) *PLoS One.* 2014; 9(2): e88491. Published online Feb 13, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0088491 - PMID: PMC3923780 Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticides and Neurobehavioral Development of Neonates: A Birth Cohort Study in Shenyang, China Ying Zhang, Song Han, Duohong Liang, Xinzhu Shi, Fengzhi Wang, Wei Liu, Li Zhang, Lixin Chen, Yingzi Gu, and Ying Tian - Aditya Bhushan Pant, Editor

23) Rauh VA, Garfinkel R, Perera FP, Andrews HF, Hoepner L, et al. (2006) - Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics* 118: e1845–1859.

24) Whyatt RM, Garfinkel R, Hoepner LA, Andrews H, Holmes D, et al. (2009) - A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environ Health Perspect* 117:559.

25) Tau GZ, Peterson BS (2010) Normal development of brain circuits. *Neuropsychopharmacology* 35:147-168.

26) Roegge CS, Timofeeva OA, Seidler FJ, Slotkin TA, Levin ED (2008) Developmental diazinon neurotoxicity in rats: later effects on emotional response. *Brain Res Bull* 75: 166–172

27) *J Assoc Off Anal Chem.* 1991 Sep-Oct; 74(5):745-65. Postharvest-applied agrochemicals and their residues in fresh fruits and vegetables. Papadopoulou-Mourkidou E

28) *J Environ Sci Health B.* 2007 Sep-Oct; 42(7):823-33. Pesticide residues in Italian Ready-Meals and dietary intake estimation. Lorenzin M.



29) Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 69:1927-1937, 2006 Copyright© Taylor & Francis Group, LLC ISSN: 1528-7394 print / 1087-2620 online DOI: 10.1080/15287390600751306 – Levels of Persistent Organic Pollutant Residues in Human Adipose and Muscle Tissues in Singapore - Qing Qing Li1, Annamalai Loganath1, Yap Seng Chong1, Jing Tan2, and Jeffrey Philip Obbard2 - 1Department of Obstetrics and Gynecology, National University of Singapore, Singapore; 2Division of Environmental Science and Engineering, National University of Singapore, Singapore.

30) Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51:99-114 (2011) Copyright C- Taylor and Francis Group, LLC ISSN: 1040-8398 print / 1549-7852 online DOI: 10.1080/10408390903432625 - A Review on the Fate of Pesticides during the Processes within the Food-Production - Chain R. M. Gonza' Lez-Rodriguez, R. Rial-Otero, B. Cancho-Grande, C. Gonzalez-Barreiro, and J. Simal-Ga' Ndara - Nutrition and Bromatology Group, Department of Analytical and Food Chemistry; Food Science and Technology Faculty, University of Vigo–Ourense Campus, E-32004 Ourense, Spain.

31) Pesticides in the Diets of Infants and Children. Washington (DC): National Academies Press (US); 1993. Committee on Pesticides in the Diets of Infants and Children - Philip J. Landrigan, Chair, Mount Sinai School of Medicine, New York; Donald R. Mattison, Vice-Chair, Graduate School of Public Health, University of Pittsburgh, Pittsburgh; Harvey J. Babich, Rockefeller University and Yeshiva University, New York; Barbara Boardman, Boston University Medical School and Boston City Hospital Pediatrics, Boston; James V. Bruckner, University of Georgia, Athens; Michael A. Gallo, University of Medicine and Dentistry of New Jersey, Robert Wood Johnson Medical School, Piscataway; Donald E. Hutchings, New York State Psychiatric Institute, New York; Richard J. Jackson, California State Department of Health Services, Berkeley; Meryl H. Karol, Graduate School of Public Health, University of Pittsburgh, Pittsburg; Daniel Krewski, Health and Welfare Canada, Ottawa, Ontario; George A. Purvis, Gerber Products Company, Fremont; Mich Robert L. Rizek, U.S. Department of Agriculture, Hyattsville; Md. James N. Seiber, University of Nevada, Reno; William B. Weil, Michigan State University, East Lan.

#### Altri articoli interessanti

- Chemosphere, Vol. 35, No. 9, pp. 1875-1885, 1997
- J Agric Food Chem. 2000 Apr; 48(4):967-73. Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products. Cabras P, Angioni A.
- Roczn Panstw Zakl Hig. 2006; 57(4):303-15. Dietary risk assessment for pesticide residues in food of plant origin during the plant protection product's registration process. Article in Polish Struciński P, Góralczyk K, Czaja K, Hernik A, Korcz W, Ludwicki JK.
- Sci Total Environ. 1996 Sep; 188 Suppl 1:S45-60. Contamination by persistent chemicals in food chain and human health. Bro-Rasmussen F.



Patrizia Gentilini

### Introduzione

L'esposizione continuativa a pesticidi, a dosi "piccole" e prolungate nel tempo, è correlata ad un aumentato rischio di molteplici patologie croniche. Come è ben noto le patologie croniche sono caratterizzate generalmente da lenta progressione e lunga durata e fra esse si annoverano il cancro, le patologie cardiovascolari, il diabete e le patologie respiratorie croniche. Esse rappresentano la principale causa di mortalità (60%) nel mondo e secondo il rapporto dell'OMS 36 milioni di persone, di cui 9 milioni al di sotto dei 60 anni, sono morte in seguito ad esse nel 2008 (1).

In costante incremento nel mondo sono anche le malattie neurodegenerative, i disturbi della sfera riproduttiva, le disfunzioni metaboliche ed ormonali (in particolare della tiroide): patologie tutte correlabili ad esposizioni ambientali ed in particolare a pesticidi.

In questo capitolo si affronterà quindi il complesso problema delle malattie croniche non tumorali connesse all'esposizione a questi agenti e ricordiamo che, oltre a quelle sopra citate, anche altre patologie quali malattie autoimmuni, lupus, nefropatie, sindrome da affaticamento cronico risultano associate con l'esposizione a queste sostanze ed una dettagliata revisione sull'argomento è stata di recente pubblicata (2).

Una crescente mole di evidenze scientifiche testimonia come l'esposizione cronica a pesticidi possa comportare alterazioni di svariati organi e sistemi dell'organismo umano quali quello nervoso, endocrino, immunitario, riproduttivo, renale, cardiovascolare e respiratorio e di come tali rischi siano ancor più elevati se l'esposizione avviene nelle fasi più precoci della vita, a cominciare dal periodo embrio-fetale.

La mole più ampia di conoscenze sulla relazione fra esposizione a pesticidi e patologie croniche giunge dai dati dell'Agricultural Health Study (AHS), un grande studio prospettico di coorte che ha arruolato fra il 1993 ed il 1997 tutti gli agricoltori e le loro famiglie residenti in North Carolina e Iowa (N=89655) e dalle indagini sui veterani americani del Vietnam esposti all'Agente Arancio, un defoliante composto da una miscela all'incirca 1:1 di due erbicidi: 2,4-D (acido-2,4-diclorofenossiacetico) e 2,4,5-T (acido-2,4,5-triclorofenossiacetico), spesso contaminati da diossina.

Una recente indagine su questa ultima coorte ha evidenziato per i militari maggiormente esposti un incremento significativo del rischio di cancro al colon, leucemia, ipertensione, vasculopatia periferica, neuropatia, sclerosi multipla, malattie della pelle, malattie psichiatriche, iperlipemia, infarto cerebrale, bronchite cronica (3).

Si tralascerà quindi tutto ciò che attiene l'esposizione acuta ad alte dosi di queste sostanze.

Va tuttavia almeno rammentato come anche l'avvelenamento acuto da pesticidi non sia affatto un problema secondario: esso può avvenire sia in modo accidentale o volontario (suicidi) sia per incidenti nel sistema di produzione/stoccaggio di tali sostanze (esplosioni/incendi ed altro). Questi ultimi eventi hanno comportato spesso veri e propri disastri ambientali le cui conseguenze, a distanza anche di decenni, sono purtroppo ancora pesantissime sia dal punto di vista sanitario che ambientale e sociale per i territori e le popolazioni esposte.

Per quanto riguarda l'esposizione accidentale/volontaria si stima che nel solo 2002 siano avvenuti nel mondo 258.000 decessi per avvelenamenti accidentali o suicidi da pesticidi (la maggior parte in Asia); inoltre i pesticidi sono la nona causa di avvelenamento in U.S.A ed il 45% di tutti gli avvelenamenti da pesticidi riguarda i bambini (4).

Per quanto riguarda i disastri ambientali non si può fare a meno di ricordare l'incidente del 1976 a Seveso con l'esplosione di un reattore contenente triclorofenolo – sostanza chimica precursore anche di pesticidi- nello stabilimento ICMESA, il disastro di Bhopal (India) nel 1984 con la fuoriuscita di 40 tonnellate di isocianato di metile (MIC) dallo stabilimento della Union Carbide India Limited (UCIL), consociata della Union Carbide specializzata nella produzione di carbaryl, che causò ben 8.000 morti nel territorio circostante e 500.000 intossicati e le cui devastanti conseguenze sui sopravvissuti e sulle generazioni successive sono tutt'ora presenti.

Ricordiamo inoltre l'incendio del 1988 alla Farmoplant (Toscana) nell'impianto di produzione del Rogor (dimetoato) con formazione di una nube tossica che si diffuse nelle zone limitrofe di Marina di

Massa, Marina di Carrara e nella zona della Versilia per un'estensione di 2000 km<sup>2</sup> e, più recentemente, l'esplosione nel 2012 di una fabbrica pesticidi ad Hebei (nord della Cina) e nel 2013 in Texas quella di un impianto di fertilizzanti.

### Principali classi di pesticidi: classificazione

Il termine pesticida è un termine generico usato per indicare tutte le sostanze che interferiscono, ostacolano o distruggono qualunque tipo di organismo vivente ritenuto nocivo per le attività umane quali insetti, roditori, microrganismi, virus, funghi, erbe infestanti; esse sono ampiamente utilizzate in agricoltura, nell'industria alimentare, in attività forestali, urbane ed in aree residenziali nonché nell'ambito domestico per prevenire e controllare infestazioni e malattie indotte da parassiti. Le formulazioni commerciali utilizzate in agricoltura in Italia sono circa un migliaio e 350 i principi attivi: dai dati ISTAT risulta che nel 2010, per il solo uso agricolo, sono state vendute nel nostro paese 143.907 tonnellate di prodotti.

Sulla base del bersaglio cui sono rivolti i pesticidi sono raggruppati in erbicidi, insetticidi, fungicidi, battericidi e rodenticidi ed in base alle loro proprietà chimiche, i pesticidi sono classificati in queste principali classi: organoclorurati (OC), organofosfati (OP), carbammati, ditiocarbammati, piretroidi, fenossiderivati, triazine, ammidi e cumarinici (Tabella 1).

I pesticidi possono anche essere classificati in base al loro meccanismo d'azione. Ad esempio, OC, OP e insetticidi piretroidi sono progettati come neurotossine, alcuni erbicidi come i fenossiderivati sono analoghi agli ormoni vegetali (auxino-simili), altri come triazine e urea alterano fisiologici processi metabolici e i rodenticidi cumarinici bloccano l'attivazione della vitamina K e quindi hanno proprietà anticoagulanti. Alcuni fungicidi quali i ditiocarbammati alterano i processi energetici cellulari e inducono stress ossidativo.

*Tabella 1: Categories of commonly used pesticides*

TYPE OF PESTICIDES	CHEMICALS
Herbicide:	Chlorophenoxyl (2,4-D, 2,4,5-T and MCPA), urea derivatives, triazines (atrazine), amide (propanil), bipyridils (paraquat and diquat), glyphosate
Insecticide:	Organochlorines [dichlorodiphenylethanes (DDT, DDD, dicofol), chlorinated cyclohexanes and benzenes (lindane, HCB), cyclodienes (aldrin, endosulfan, chlordane and toxaphene) and chlordane (mirex), organophosphates (chlorpyrifos, diazinon, parathion, malathion), carbamates (aldicarb, aminocarb), pyrethroids (pyrethrins, permethrin, deltamethrin, cypermethrin), rotenone, <i>Bacillus thuringiensis</i> (protein product)
Fungicide:	Dithiocarbamate, captan, captofol, pentachlorophenol, iprodione, sulphur
Bactericide:	Triazine-S-triones, chlorine-releasing agents, chlorine, dichloronitrobenzene
Rodenticide:	Coumadin and derivatives, anticoagulants, strychnine, sodium fluoroacetate
Fumigant:	Methyl bromide, aluminum/zinc phosphide, sulfur

### Esposizione cronica a pesticidi: caratteristiche

L'esposizione a dosi piccole ma prolungate nel tempo a pesticidi comporta importanti rischi per la salute umana e rappresenta indubbiamente un problema complesso, di difficile quantificazione, ma fonte di crescente preoccupazione per la salute pubblica. Infatti questo problema, evidenziatosi inizialmente nelle categorie professionalmente esposte, riguarda oggi potenzialmente pressoché tutta la popolazione umana stante la presenza di tali molecole non solo nelle varie matrici ambientali e nella

catena alimentare, ma nei nostri stessi organismi, compreso cordone ombelicale e latte materno (5-7). È documentato inoltre che si registrano effetti anche a dosi infinitesimali, spesso di gran lunga inferiori ai limiti di legge consentiti, specie se l'esposizione avviene nelle fasi più precoci della vita (8).

Un recente studio condotto a Tenerife con gas-cromatografia e spettrometria ha evidenziato nel siero dei 363 soggetti (non professionalmente esposti) residui di pesticidi nella quasi totalità (99.45%) dei casi. Complessivamente sono stati identificati 24 pesticidi, in associazione variabile da 2 a 6 principi attivi. I pesticidi ritrovati più frequentemente sono risultati: piretrine (96.1%), organofosfati (93.3%) e organoclorurati (92.3%); pesticidi ad azione neurotossica come bifentrin e malation sono stati ritrovati nel 81%, esaclorobenzene e DDT nel 50% (9).

Le ragioni per cui l'esposizione cronica a pesticidi rappresenta un problema particolarmente complesso sono molteplici: dalle differenze nel valutare l'esposizione (questionari occupazionali - residenziali, biomonitoraggio) al fatto che la valutazione della tossicità viene eseguita normalmente sul singolo composto, senza tener conto della molteplicità dei principi attivi presenti nelle diverse matrici cui la popolazione è esposta. Inoltre comunemente si testa il principio attivo e non la formulazione commerciale di fatto in uso: nel caso ad esempio del glifosato, un erbicida estremamente diffuso anche al di fuori della pratica agronomica, il principio attivo dovrebbe avere come unico bersaglio le cellule vegetali e quindi nessuna tossicità per gli umani, ma nella formulazione commerciale è inserito un surfactante derivato dagli idrocarburi per cui si è dimostrato, su cellule umane coltivate in vitro, che la formulazione commerciale comporta una maggior tossicità ed inibisce proliferazione, sopravvivenza e differenziazione cellulare (10).

Si segnala inoltre che, in alcuni casi, sottoprodotti dei pesticidi possono presentare effetti nocivi maggiori rispetto ai loro composti originari. Ad esempio su embrioni di pesce zebra uno studio ha dimostrato che l'uso di aldicarb solfossido comporta un aumento della frequenza cardiaca a bassa concentrazione e una diminuzione a maggiore concentrazione, effetti che non si osservano con la molecola originaria l'aldicarb (11).

Un altro studio ha riportato che su spermatozoi umani i metaboliti di metil-parathion, clorpirifos e diazinone erano da 15 a 10 volte più tossici rispetto ai corrispondenti composti originari (12).

Esistono poi fattori come età, sesso, stato nutrizionale, abitudini personali, variabilità genetica individuale che influenzano grandemente la suscettibilità ai pesticidi. In particolare esiste una variabilità genetica che influenza gli enzimi responsabili del loro metabolismo: i diversi polimorfismi comportano infatti profili metabolici più o meno favorevoli con aumentata degradazione ad esempio degli agenti neurotossici o, viceversa, con la bioattivazione di composti inizialmente inattivi (13-15).

In particolare è noto già da tempo che la neurotossicità degli organofosfati, insetticidi ampiamente diffusi, è condizionata su base genetica dai diversi livelli di Paraoxinasi 1 (PON1), glicoproteina coinvolta nel loro metabolismo (16).

Tale variabilità è particolarmente importante nell'infanzia ed associata ad aumentato rischio di deficit sullo sviluppo neurologico e motorio se l'esposizione avviene in special modo nelle prime fasi della vita.

Di recente si è dimostrato che nelle madri che presentano più bassi livelli di PON1 in gravidanza aumenta il rischio di neurotossicità da organofosfati nella prole (17).

Altro fattore di particolare importanza che condiziona la tossicità conseguente ad esposizione a pesticidi è, come già detto, il momento in cui avviene l'esposizione: in particolare il periodo embrio-fetale è quello in cui tale esposizione può avere le più gravi conseguenze in quanto questa è la fase più critica non solo per lo sviluppo di patologie nell'infanzia, ma anche in età adulta. Una ampia revisione degli studi che hanno indagato gli effetti sul neurosviluppo conseguenti alla esposizione pre o postnatale ad organofosfati ha evidenziato che l'esposizione durante la gravidanza comporta i maggiori deficit ed un incremento dei casi di deficit di attenzione in età scolare rispetto all'esposizione postnatale (18). Così pure una revisione di 13 studi caso-controllo pubblicati fra il 1987 e 2009 per indagare il rischio di leucemia infantile e pesticidi ha evidenziato che il rischio più elevato, statisticamente significativo, si aveva per esposizione durante la gravidanza (RR= 2.19, IC 95%: 1.92-2.50) (19).

In sintesi si riportano le principali caratteristiche dell'esposizione cronica a pesticidi in Tabella 2.

Tabella 2: Caratteristiche dell'esposizione cronica a pesticidi

Tossicità in relazione a dosi piccole ma prolungate
Difficoltà nel valutare l'esposizione
Di norma testati i principi attivi e non le formulazioni commerciali spesso estremamente più tossiche
Possibile diversità di effetti tossici fra composti originari e loro metaboliti
Possono essere presenti effetti anche per dosi inferiori ai limiti consentiti e per esposizioni minimali
Si studia abitualmente l'effetto della singola sostanza dimenticando che siamo esposti a cocktail di molecole
Diversa capacità di metabolizzazione per polimorfismi individuali
Diversa suscettibilità individuale in relazione ad età, genere, stato nutrizionale, abitudini personali
Maggiore suscettibilità degli organismi in via di sviluppo, in particolare nel periodo embrio fetale, nei neonati e nei bambini

### Modalità dell'esposizione

L'esposizione cronica a pesticidi può avvenire secondo le seguenti principali modalità:

*- esposizione professionale*

L'esposizione professionale può avvenire durante la produzione, il trasporto, la preparazione e l'applicazione di pesticidi. I principali fattori coinvolti in questo tipo di esposizione includono l'intensità di applicazione, la frequenza, la durata e il metodo, il rispetto delle norme di sicurezza, l'uso di dispositivi di protezione individuale, nonché i profili fisico-chimici e tossicologici dei pesticidi in uso (20).

Anche membri della famiglia di coloro che utilizzano pesticidi possono avere notevoli rischi di esposizione per sversamenti accidentali, perdite, usi non corretti di attrezzature e non rispetto della sicurezza e delle linee guida (21).

Le proprietà fisico-chimiche delle particolari formulazioni di pesticidi e le condizioni di applicazione quali temperatura, umidità, tempo, igiene personale (ad esempio, lavarsi le mani) ed uso di dispositivi di protezione individuale sono tutti fattori che influenzano l'esposizione. Inalazione respiratoria e assorbimento cutaneo sono considerati le principali vie di esposizione a pesticidi in ambienti professionali, l'esposizione respiratoria di solito si verifica quando si applicano prodotti altamente volatili, in particolare se le attività lavorative vengono svolte senza i dispositivi di protezione delle vie respiratorie (ad esempio maschera con filtro) o in un ambiente di lavoro poco ventilato (22).

Organofosfati e carbammati possono essere efficacemente assorbiti dalla pelle a causa della loro elevata solubilità lipidica come pure insetticidi organoclorurati come DDT (diclorodifeniltricloroetano), lindano, aldrin e clordano che sono più liposolubili di altri.

Al contrario, a causa della bassa solubilità lipidica, gli insetticidi piretroidi sono scarsamente assorbiti dalla pelle intatta, ma efficacemente assorbiti per inalazione e ingestione.

Erbicidi quali i clorofenoli sono spesso in forma di sali, ciò si traduce in una bassa volatilità e solubilità lipidica che rende tali composti ben assorbibili dal tratto gastrointestinale dopo l'ingestione e meno facilmente assorbiti dai polmoni e dalla pelle (23).

L'esposizione respiratoria può avvenire anche attraverso l'inalazione di particolato od aerosol contaminato da pesticidi. In questo caso il diametro aerodinamico e l'igroscopicità massa-mediata (MMAD) delle particelle contenenti pesticidi sono importanti fattori nella determinazione della localizzazione della loro deposizione nelle vie respiratorie, e quindi potenzialmente della tossicità (24).

*- esposizione ambientale/residenziale*

È ampiamente documentato che vivere vicino ai luoghi in cui i pesticidi vengono utilizzati, fabbricati o smaltiti può aumentare in modo significativo l'esposizione ambientale per inalazione e contatto con l'aria, acqua e suolo (25-26).

Di particolare rilievo è anche l'effetto "deriva", con questo termine si intende la dispersione aerea delle particelle di miscela di pesticidi usati per i trattamenti in agricoltura che non raggiungono quindi il bersaglio ma si diffondono nell'ambiente circostante. Le gocce di miscela chimica vanno in questo modo a inquinare l'aria, l'acqua e il suolo e a colpire non solo l'uomo ma anche le piante spontanee e gli insetti utili. In presenza di coltivazioni intensive confinanti con residenze private o luoghi pubblici

(scuole, asili, parchi ecc.) è possibile quindi la contaminazione dei residenti e della popolazione che vi si trova. Inoltre i pesticidi arrivano - direttamente o attraverso il nutrimento - agli organismi che vivono nel terreno o in prossimità delle coltivazioni, come i piccoli mammiferi, gli uccelli, i pesci ecc. per i quali questi prodotti si rivelano spesso altamente tossici.

Questo tipo di contaminazione è particolarmente importante se lo spargimento avviene con atomizzatori ed in particolari condizioni atmosferiche (ventosità).

Fra i fattori residenziali che influenzano l'esposizione cronica a pesticidi va incluso anche l'uso domestico di insetticidi, topicidi, erbicidi e fungicidi per piante da appartamento o giardinaggio. Trattamenti intensivi con spray, compreso "bombe delle pulci" e nebulizzatori possono lasciare residui persistenti in aria, tappeti, giocattoli e polvere di casa (27-30).

Il comportamento esplorativo tipico dei bambini, compreso il gattonare ed il gioco sul pavimento, aumenta il rischio di esposizione per via dermica, inalazione e per via orale; pesticidi possono essere misurati in campioni d'aria indoor e persistere in polvere aspirata da moquette, oggetti imbottiti, giocattoli per bambini, animali imbalsamati, oppure essere portati a casa dal posto di lavoro (31-33).

A Los Angeles, alti livelli di clorpirifos e di altri insetticidi sono stati trovati a causa del gran numero di insetti, pulci e termiti. Al contrario, in Iowa, ci sono stati alti livelli degli erbicidi 2,4-acido diclorofenossiacetico (2,4-D) e dicamba a causa del diserbo; nella Carolina del Nord uno studio condotto all'interno di 142 fra case urbane e scuole ha rilevato la presenza di clorpirifos in tutti i campioni di aria e di polvere (34).

*- esposizione attraverso la dieta per presenza di residui negli alimenti o nell'acqua.*

Questa modalità è di grande importanza e riguarda potenzialmente tutti i consumatori.

L'ultimo rapporto ISPRA ha riguardato 3.621 punti di campionamento e 12.504 campioni. Sono state cercate 355 sostanze e nelle acque superficiali sono stati trovati residui di pesticidi nel 55.1% dei punti, nel 34.4% dei casi con concentrazioni superiori ai limiti delle acque potabili. Nelle acque sotterranee sono risultati contaminati il 28.2% dei punti, nel 12.3% dei casi con concentrazioni superiori ai limiti stabiliti per le acque potabili (35).

Le concentrazioni misurate sono spesso basse, ma il risultato complessivo indica una diffusione molto ampia della contaminazione. I livelli sono generalmente più bassi nelle acque sotterranee, ma residui di pesticidi sono presenti anche nelle falde confinate.

Le sostanze trovate complessivamente nelle acque sono 166, in prevalenza erbicidi e relativi metaboliti. Come in passato, nei campioni sono presenti in genere miscele di sostanze. Nelle acque superficiali è stata riscontrata la presenza di almeno due sostanze nel 20% dei campioni, con un massimo di 23 sostanze in un singolo campione e una media di circa 3 sostanze. Nelle acque sotterranee si trovano almeno 2 sostanze nel 13% dei campioni, la media è di 2.5 sostanze e il massimo, anche qui, è di 23 sostanze. Gli erbicidi triazinici e il metolachlor sono i componenti più frequenti delle miscele, sia nelle acque superficiali sia in quelle sotterranee.

Residui di pesticidi si ritrovano poi in frutta e vegetali, ma anche in carni, pesce e prodotti lattiero-caseari, grazie al loro bioaccumulo e biomagnificazione nella catena alimentare. Questo tipo di contaminazione rappresenta un problema di crescente rilievo e preoccupazione per la salute dei consumatori e per le Istituzioni: un Rapporto della Commissione Europea del 2005 ha valutato che la dose acuta di riferimento (un parametro per consumi elevati a breve termine, di solito in un giorno o un pasto) è stata superata per alcuni pesticidi in diversi ortaggi e frutta e che il 26.7% dei campioni mostra residui di più di un pesticida, con un significativo trend di crescita rispetto al passato (36).

Un rapporto dell'EPA del 2003 ha evidenziato che negli Stati Uniti, tra la produzione nazionale, il 49% dei campioni di frutta, il 29% di quelli di verdure, il 26% dei prodotti del grano, il 24% di pesci/frutti di mare presenta residui di pesticidi all'interno dei limiti consentiti; livelli superiori ai limiti di legge sono stati ritrovati in circa il 2% dei campioni di frutta e verdura (37).

La situazione in Italia è riportata dai rapporti di Legambiente "Pesticidi nel piatto": l'ultimo mostra che in Italia il 36% dei campioni di frutta e verdura analizzati presenta residui e che sono in aumento i campioni con multiresidui: addirittura 9 su un solo campione di uva da tavola (38).

### **Rischi per la salute umana da multiresidui**

I rischi per la salute umana da esposizione cronica a multipli residui di pesticidi (multiresidui) sono poco conosciuti, sia perché i test tossicologici vengono generalmente effettuati su ogni singola sostanza e poco si sa dei loro effetti quando presenti in miscele, sia perché gli effetti tossici di queste miscele difficilmente possono essere previsti a priori, sulla base dell'azione dei singoli composti (39).

Ad esempio, una miscela equimolare di tre pesticidi (deltametrina, metiocarb, e procloraz) ha dimostrato di sopprimere in vitro l'attivazione del recettore degli androgeni (AR) (40).

Ancora vi può essere un potenziamento dell'azione tossica di piretroidi, carbaryl e erbicidi triazinici da parte degli organofosfati, la tossicità degli organofosfati può essere potenziata da altri organofosfati o da una precedente esposizione a organoclorurati; ancora vi è una sinergia tra piretroidi e carbammati e viceversa un antagonismo tra erbicidi triazinici e procloraz (41).

Proprio per indagare le ricadute sulla salute umana dell'esposizione a multiresidui attraverso la dieta è stato avviato in Francia lo studio PERICLES. Questo studio si propone di valutare su linee cellulari umane e test di laboratorio gli effetti di 79 residui di pesticidi in 7 diverse miscele (da 2 a 6) presenti abitualmente nella dieta dei francesi. Sono oggetto di indagine svariate funzioni cellulari quali: citotossicità, genotossicità, stress ossidativo, apoptosi, nonché impedenza cellulare in tempo reale e transattivazione del recettore nucleare; questo perché gli effetti tossici delle diverse miscele non possono essere facilmente predetti sulla base del potenziale tossico di ogni composto (42).

### **Principali meccanismi d'azione dell'esposizione cronica a pesticidi**

Stante le centinaia di principi attivi presenti sul mercato e l'immissione sul mercato di sempre nuove molecole, la conoscenza dettagliata della loro azione tossica sull'uomo, specie se a dosi minimali e prolungata nel tempo, è indubbiamente complessa e difficilmente esaustiva.

I principali effetti che possono risultare sono:

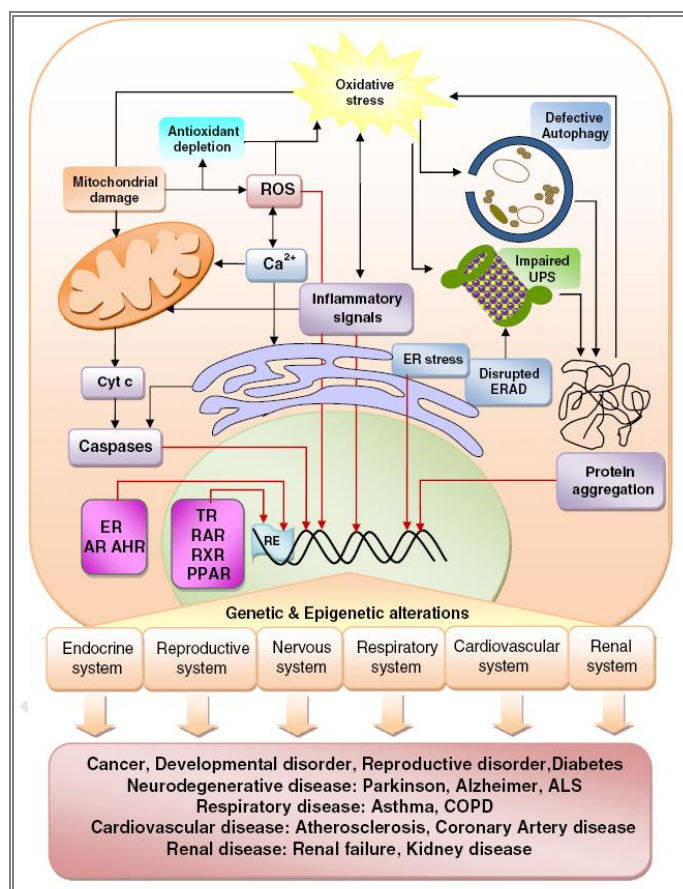
- modificazioni genetiche ed epigenetiche
- squilibri nella funzione recettoriale con azione di "interferenza endocrina"
- disfunzione mitocondriale
- perturbazione della conduzione neuronale per alterazione dei canali ionici,
- alterazione dell'attività enzimatica specie per interferenza con l'acetilcolinesterasi,
- stress ossidativo
- stress del reticolo endoplasmatico

Questa molteplicità di azioni dà ragione quindi dell'ampia gamma di patologie che risultano correlate, con sufficiente evidenza, all'esposizione a pesticidi quali: vari tipi di cancro, diabete, malattie neurodegenerative come il Parkinson, l'Alzheimer e la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), difetti di nascita e vari tipi di disordini riproduttivi. Ci sono anche prove indiziarie sull'associazione di esposizione ai pesticidi con alcune altre malattie croniche come problemi respiratori, in particolare asma e broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), malattie cardiovascolari come l'aterosclerosi e malattia coronarica, nefropatie croniche, malattie autoimmuni come il lupus sistemico artrite reumatoide e eritematoso, sindrome da stanchezza cronica e l'invecchiamento.

Una sintetica rappresentazione di tali meccanismi è riportata in Figura 1 tratta da (2).



Figura 1: Principali modalità dell'azione tossica dei pesticidi



A simplified model for mechanisms by which pesticides induce and develop chronic disease, ROS: reactive oxygen species, Cyt c: cytochrome c, UPS: ubiquitin proteasome system, ER stress: endoplasmic reticulum stress, ERAD: endoplasmic reticulum associated degradation, ER: estrogen receptor, AR: androgen receptor, AHR: aryl hydrocarbon receptor, TR: thyroid receptor, RAR: retinoic acid receptor, RXR: retinoid X receptor, PPAR: peroxisome proliferator-activated receptor, RE: response element, ALS: amyotrophic lateral sclerosis, COPD: chronic obstructive pulmonary disease.

Poichè alterazioni genetiche ed epigenetiche sono oggetto di altri specifici capitoli, qui verranno affrontati solo i restanti meccanismi.

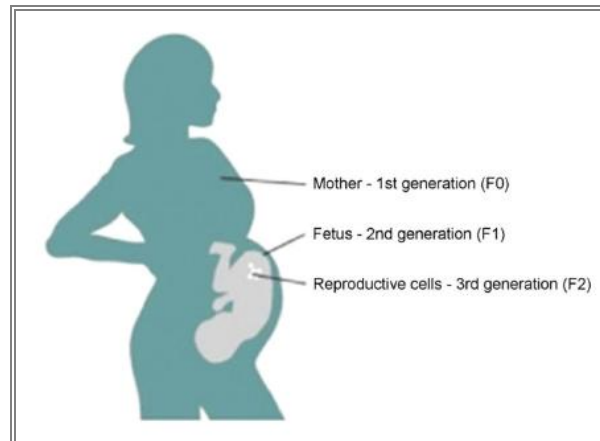
*- azione dei pesticidi come interferenti endocrini*

Il termine "interferente endocrino" è stato introdotto per la prima volta nel 1991 e con esso si intendono tutte le sostanze che interferiscono con la sintesi, la secrezione, il trasporto, l'azione, il metabolismo o l'eliminazione degli ormoni. Il meccanismo d'azione presuppone quindi un meccanismo di tossicità in grado di interferire con la capacità delle cellule di comunicare tra loro attraverso gli ormoni e vastissima è la gamma di effetti negativi per la salute che ne conseguono: difetti di nascita, deficit riproduttivi, di sviluppo, alterazioni metaboliche, immunitarie, disturbi neurocomportamentali e tumori ormono-dipendenti. Ricordiamo che l'Istituto Superiore di Sanità definisce gli interferenti endocrini come "sostanza esogena, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie o di una (sotto)popolazione". Queste sostanze quindi possono non solo esplicare effetti negativi sull'individuo esposto, ma, agire sulle stesse cellule germinali, determinando alterazioni che si trasmettono alle generazioni successive attraverso modificazioni di tipo epigenetico come ben risulta dalla Figura 2 (43).

Tutto ciò apre ovviamente scenari ancor più preoccupanti in quanto siamo di fronte alla possibilità di una amplificazione del danno e alla sua trasmissibilità attraverso le generazioni e dà ragione della crescente attenzione e preoccupazione circa gli effetti di queste molecole specie sulle frange più sensibili della popolazione: feti, neonati, bambini, donne.

Tali effetti si manifestano spesso tardivamente (anche dopo decenni) e variano non solo in base alla durata, al tipo di sostanza e alla loro quantità, ma anche a seconda del momento in cui avviene l'esposizione. gravidanza, allattamento, vita fetale, infanzia e pubertà sono momenti cruciali, "finestre espositive", in cui il contatto con tali agenti può comportare effetti particolarmente gravi. E' stato recentemente dimostrato che l'esposizione a DDT (un agente in uso come insetticida negli anni '50 che - anche se bandito da anni - ancor oggi è presente nelle matrici ambientali) è correlato ad un aumentato rischio di cancro mammario se l'esposizione è avvenuta in età pre-pubere (44).

*Figura 2: Esposizioni ambientali e trasmissione transgenerazionale dei danni*  
*Three generations at once are exposed to the same environmental conditions (diet, toxics, hormones, etc.). In order to provide a convincing case for epigenetic inheritance, an epigenetic change must be observed in the 4th generation.*



*Fonte: Prenatal exposures, epigenetics, and disease Reprod Toxicol 2011 31(3) 363-373*

Molte sostanze chimiche identificate come interferenti endocrini sono pesticidi: complessivamente sono circa 105 e di queste, il 46% sono insetticidi, 21% erbicidi e 31% fungicidi.

I principali gruppi di pesticidi con questa azione sono: insetticidi clorurati (lindano, dieldrin), fungicidi (vinclozolin, linorun), triazolici (ciproconazolo), imidazoli (imizaloil), triazine (atrazina, simazina), ditiocarbammati (mancozeb), coformulanti (alchifenoli). Anche se alcuni di essi sono stati ritirati dal commercio già da anni, si trovano ancora diffusamente presenti nell'ambiente.

Gli interferenti endocrini (IE) agiscono principalmente interferendo con gli ormoni naturali a causa della loro forte affinità di legame con recettori estrogeni (ER) o androgeni (AR), vi può essere tuttavia una interazione anche con altri tipi di recettori quali l'Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR), il Constitutive Androstane Receptor (CAR) o l'Estrogen Related Receptor (ERR). In conseguenza di questi legami l'azione dell'ormone naturale può essere mimata con azione agonista, "modulata" con azione solo parzialmente agonista o, all'opposto, soppressa con una azione antagonista. Gli IE possono anche interferire con la sintesi, il trasporto, il metabolismo e l'eliminazione degli ormoni, diminuendo in tal modo la concentrazione degli ormoni naturali. La maggior parte degli IE mima la funzione estrogenica sia comportandosi come un ligando per il recettore, oppure attivando la conversione di altri steroidi in estrogeni attivi o aumentando l'espressione di geni estrogeno-responsivi come dimostrato da alcuni organoclorurati, organofosfati, carbammati e piretroidi.

Effetti antiandrogeni sono stati riportati per organoclorurati, insetticidi carbammati, nonché erbicidi quali triazine attraverso l'inibizione del legame tra androgeni ed il loro recettore: in questo caso le conseguenze sono rappresentate da ritardo nello sviluppo riproduttivo e sessuale maschile. Anche la funzione tiroidea può risentire degli effetti degli IE: ad es. la produzione di ormone tiroideo può essere inibita da una decina di pesticidi quali: amitrolo, cialotrina, fipronil, ioxinil, maneb, mancozeb, pentachloronitro-benzene, prodiamine, pirimetanil, tiazopir, ziram, zineb (45).

Per il mancozeb è stato dimostrato anche un effetto di iperstimolazione della attività tiroidea con conseguente ipertiroidismo. Anche l'età è un fattore particolarmente importante nel condizionare gli effetti degli IE, in particolare feti, neonati e bambini mostrano una maggiore sensibilità rispetto agli adulti, anche se la maggior parte dei danni causati da IE possono non diventare evidenti fino all'età adulta (46).

Feti e neonati sono anche maggiormente esposti perché, durante durante la gravidanza e l'allattamento al seno si verifica una mobilizzazione delle riserve di grasso materno con conseguente rilascio degli inquinanti lipofili (compreso pesticidi) ivi sequestrati (47-48).

Fra i più importanti effetti negativi che si osservano in seguito ad esposizione pre e post-natale ai pesticidi con azione di interferenti endocrini, vi sono impatti a lungo termine sulla funzione intellettuale e sullo sviluppo del Sistema Nervoso Centrale.

*- disfunzioni mitocondriali*

I mitocondri sono la principale fonte di ATP per la cellula e hanno un ruolo fondamentale nella omeostasi del calcio, nella sintesi di steroidi e eme, nell'attività cellulare metabolica, nei processi ossidativi e nell'apoptosi. Modificazioni della catena respiratoria mitocondriale sono la causa primaria di rottura dell'equilibrio energetico cellulare ed è stato ampiamente studiato come tali alterazioni siano coinvolte in differenti tipi di malattie umane soprattutto diabete e patologie neurodegenerative (49-52).

Vi è ampia documentazione in letteratura di un coinvolgimento mitocondriale di proteine come  $\alpha$ -sinucleina, parkina, DJ-1, PINK1, APP, PS1 e 2, e SOD1 che hanno ruoli importanti in malattie neurodegenerative, tra cui Parkinson, Alzheimer, sclerosi laterale amiotrofica (53).

Nel 2000 si è dimostrato che il rotenone, un antiparassitario ad ampio spettro il cui meccanismo d'azione è l'inibizione selettiva del complesso I della catena respiratoria mitocondriale, faceva sviluppare in animali da laboratorio i sintomi del Parkinson, questo dato è stato quindi ampiamente utilizzato per creare modelli in animali di laboratorio e si è così dimostrato che molti prodotti agrochimici sono in grado di inibire la catena di trasporto degli elettroni sia come meccanismo di azione primario che secondario. La maggior parte dei pesticidi che interferiscono con le attività della catena respiratoria mitocondriale sono prevalentemente inibitori della complessa catena di trasporto degli elettroni mentre altri inibiscono parzialmente i complessi II, III e V (54).

Inoltre, una vasta gamma di pesticidi ha dimostrato di alterare la fosforilazione ossidativa mitocondriale attraverso l'inibizione di una via biosintetica essenziale per la funzione mitocondriale o extramitocondriale con generazione di radicali liberi, principalmente specie reattive dell'ossigeno (ROS reactive oxygen species) (54).

Allo stesso modo, ci sono prove sufficienti sul ruolo di disfunzioni mitocondriali nelle alterazioni dell'omeostasi del glucosio caratteristiche del diabete mellito, tra cui il deficit di insulina e la resistenza all'insulina. Insufficienza delle cellule beta del pancreas è stata segnalata in associazione a disfunzione mitocondriale in seguito ad esposizione a pesticidi (55-56).

D'altra parte, l'esposizione a pesticidi può comportare l'inibizione del complesso I e III della catena mitocondriale respiratoria e indurre sia una diminuzione del consumo di ossigeno che della fornitura di energia cellulare che a sua volta può portare, attraverso una attivazione a cascata di segnali, ad una ulteriore riduzione di insulina.

In particolare si è anche dimostrato che organoclorurati, atrazina, e alcuni pesticidi diossino-simili diminuiscono la capacità mitocondriale di metabolizzare gli acidi grassi tramite beta ossidazione con conseguente accumulo di grasso intracellulare, situazione considerata a rischio di sviluppare obesità e insulino-resistenza (57-59).

*- stress ossidativo*

L'aumento dello stress ossidativo o una ridotta capacità di difesa antiossidante possono compromettere l'omeostasi e danneggiare tutti i componenti della cellula, tra cui lipidi, proteine e DNA. Lo stress ossidativo ricopre un ruolo importante nell'induzione e sviluppo di diversi tipi di malattie umane, tra cui il cancro, il diabete, patologie neurodegenerative, aterosclerosi, schizofrenia, sindrome da stanchezza cronica e disturbi renali e respiratori (60-63).

Lo stress ossidativo da pesticidi è documentato da una vasta mole di letteratura e questo meccanismo è stato invocato nello sviluppo di patologie correlate ad esposizione a pesticidi. È stato dimostrato che i pesticidi possono alterare l'omeostasi ossidativa sia direttamente che indirettamente, attraverso la via mitocondriale ed extramitocondriale con produzione di radicali liberi, ossidazione di gruppi tiolici ed esaurimento delle riserve antiossidanti cellulari (64-65).

Dal momento che lo stress ossidativo è un potente promotore di altri percorsi cellulari coinvolti nei processi patologici e riveste un ruolo primario nella risposta infiammatoria, questo meccanismo è uno dei più importanti nella genesi di patologie croniche da esposizione a pesticidi. Lo stress ossidativo è

stato ad es. implicato nella insorgenza e progressione della malattia di Parkinson indotta da pesticidi (66).

In particolare i pesticidi organoclorurati sono stati in grado di causare la degenerazione dei neuroni dopaminergici tramite questo meccanismo in un modello di malattia di Parkinson (67).

Inoltre, gli effetti di interferenza endocrina degli organofosfati sulla omeostasi glicemica sono stati correlati a danni ossidativi e aumento dei livelli di citochine infiammatorie e sono stati interpretati come risposte compensatorie a ridotti livelli di insulina in organi sensibili come il fegato, muscoli e tessuto adiposo (68).

Come ulteriori fattori di rottura dell'omeostasi glicemica, sono stati anche segnalati, in modelli animali di esposizione a insetticidi organofosfati, una maggiore perossidazione lipidica ed una ridotta attività degli enzimi antiossidanti (69).

Lo stress ossidativo è anche risultato coinvolto nella nefrotossicità di alcuni pesticidi compresi diazinone, e paraquat (70).

#### - *stress del reticolo endoplasmico e unfolded protein response (UPR)*

Qualsiasi alterazione dell'omeostasi del calcio, della regolazione dei processi di ossido riduzione e della disponibilità di energia all'interno della cellula può causare modificazioni del reticolo endoplasmico con conseguente accumulo di proteine "mal ripiegate", situazione che va sotto il nome di stress del reticolo endoplasmico. Questa è una caratteristica in particolare delle cellule secretorie specializzate ma si osserva anche in molte patologie umane, specie di tipo cronico/degenerativo. In questa situazione si attiva una risposta (UPR) che ha essenzialmente due scopi: ripristinare la funzione normale della cellula attraverso l'interruzione della sintesi proteica e l'incremento di produzione di chaperon molecolari coinvolti nel ripiegamento proteico; se questi obiettivi non vengono raggiunti entro un determinato lasso di tempo la risposta UPR avvia i processi di apoptosi.

Recenti studi indicano che stress prolungato del reticolo endoplasmico e UPR svolgono un ruolo importante nello sviluppo di molte malattie umane in particolare croniche, tra cui la resistenza all'insulina, diabete ma anche formazione e progressione tumorale, aterosclerosi, cardiomiopatia, malattie renali croniche e insufficienza renale (71-74).

I principali pesticidi per i quali si è dimostrata l'attivazione di questi meccanismi sono il paraquat, il rotenone, la deltametrina, il ditiocarbammato (75-78).

#### - *aggregazione proteica*

La degradazione di proteine, alterate, danneggiate o non necessarie è un processo biologico fondamentale che ha un ruolo cruciale nel mantenimento e regolazione della funzione cellulare. Due sono i principali meccanismi cellulari di degradazione proteica; il sistema ubiquitina- proteosoma (UPS), che si rivolge principalmente alla degradazione di proteine di breve durata da parte di un complesso specializzato, e autofagia che degrada le proteine più longeve e scarsamente solubili attraverso l'attività lisosomiale. Alterazioni di questi sistemi sono implicate nella patogenesi di diverse malattie croniche, soprattutto neurodegenerative e tumorali e sono rispettivamente rappresentate da diminuita o aumentata attività del proteosoma (79).

L'esposizione ambientale a determinati pesticidi è stata collegata a una disfunzione del proteosoma e alla insorgenza di malattie neurodegenerative. Il dieldrin, pesticida organoclorurato, ha mostrato di diminuire l'attività del proteosoma con una maggiore sensibilità agli stimoli promuoventi l'apoptosi in cellule neuronali dopaminergiche (80).

Inibizione del proteosoma è stata anche dimostrata in cellule di neuroblastoma esposte a rotenone, ziram, dietilditiocarbammato, endosulfan, benomyl e dieldrin (81-82).

Il percorso di degradazione lisosomiale di autofagia è conosciuto come un processo di autodigestione con cui le cellule sono in grado non solo di sbarazzarsi di proteine mal ripiegate, organelli danneggiati e microrganismi infettivi, ma anche di rifornire l'organismo di nutrienti durante il digiuno.

Una alterazione di questo processo ha trovato un ruolo emergente in molte malattie umane come cancro, patologie neurodegenerative, diabete, invecchiamento e disturbi di fegato, muscolo, e cuore (83-84).

Ci sono alcune segnalazioni sul coinvolgimento di una autofagia difettosa tra i numerosi meccanismi con cui alcuni pesticidi possono causare effetti tossici. Una relazione tra autofagia e apoptosi indotta da paraquat nelle cellule di neuroblastoma è stata dimostrata da Gonzalez-Polo e colleghi nel 2007 (85).

Questo effetto è stato confermato in un altro studio in cui l'autofagia indotta da paraquat è stata attribuita alla presenza di stress del reticolo endoplasmico (86).

Anche il lindano, un pesticida organoclorurato ad ampio spettro, si è mostrato in grado di interferire con un processo autofagico in epatociti primitivi di ratto e di spiegare così la propria tossicità (87).

### **Patologie croniche non tumorali correlate ad esposizione a pesticidi**

#### Apparato Respiratorio

Numerosi sono i sintomi e le alterazioni della funzione polmonare che si osservano in seguito ad esposizione a pesticidi ed anche se non sempre i risultati sono adeguatamente specifici, rendendo talvolta complessa l'interpretazione dei dati, esiste una buona evidenza che numerosi pesticidi causano sintomi respiratori acuti e cronici.

I principali sintomi respiratori sono: dispnea, irritazione delle vie respiratorie, gola secca/mal di gola, tosse, senso di costrizione toracica, rinorrea. Uno studio epidemiologico caso-controllo su lavoratori addetti ad un impianto di confezionamento di pesticidi ha mostrato che, rispetto ai controlli, vi era un rischio significativamente maggiore di sintomi quali tosse cronica, dispnea gradi 3 e 4, irritazione della gola nei maschi, catarro e secchezza nasale (88).

Nonostante i risultati non significativi, anche Hashemi et al. in una indagine su agricoltori iraniani hanno evidenziato che l'uso dei pesticidi era associato ad un aumentato rischio di dispnea e catarro (89).

Così pure uno studio del Programma di Sorveglianza Farm Family Health Hazard (FFHHSP) fra coltivatori di grano in Ohio negli Stati Uniti ha dimostrato che il contatto con i pesticidi era associato ad una elevata prevalenza di tosse cronica (90).

Altri studi hanno messo alcuni sintomi in relazione con particolari tipi di agenti, ad esempio, pesticidi che inibiscono la colinesterasi quali carbammati e organofosfati; questi hanno dimostrato di indurre non solo sintomi neurologici ma di comportare anche sintomi respiratori e riduzione della funzionalità polmonare. Uno studio caso-controllo su agricoltori in India orientale ha dimostrato che, rispetto ai controlli, i lavoratori agricoli che avevano irrorato organofosfati e carbammati presentavano un significativo esaurimento dell'acetilcolinesterasi dei globuli rossi (AChE), e che tale parametro era associato in modo statisticamente significativo con: mal di gola (OR=1.76, IC 95%: 1.29-2.43), tosse secca (OR=2.83, IC 95%: 1.92-4.41), senso di costrizione toracica (OR=3.26, IC 95%: 2.23-5.17), dispnea (OR=2.63, IC 95%: 1.89-4.13), bronchite cronica (OR=2.54, IC 95%: 1.48-3.74) e diagnosi clinica di asma (OR=1.34, IC 95%: 1.09-1.79) (91).

Risultati analoghi sono emersi da uno studio su lavoratori agricoli kenioti: Ohayo-Mitoko et al. hanno riscontrato che pesticidi noti per tossicità neurologica quali dimetoato, malathion, benomyil, mancozeb, methomyil, aldicarb e propineb, erano associati con maggiore prevalenza di sintomi respiratori, come dolore toracico, tosse, naso che cola, respiro sibilante, difficoltà nella respirazione, mancanza di respiro, e irritazione della gola (92). Hoppin et al. nel riportare i risultati dell'Agricultural Health Study (AHS) hanno trovato che l'esposizione a pesticidi organofosfati quali dichlorvos e phorate nel corso dell'anno precedente era significativamente associata con affanno (OR=2.48, IC 95%: 1.08-5.66 e OR=2.35, IC 95%: 1.36-4.06 rispettivamente) dopo aggiustamento per età, BMI, fumo, asma/atopia e precedente uso dei pesticidi.

Sempre da questo studio è emersa una relazione dose-risposta (p-value per il trend <0,01) per clorpirifos e respiro sibilante ed è anche emerso che tale sintomo era correlato in modo statisticamente significativo con l'esposizione a: alachlor (OR=1.23, IC 95%: 1.06-1.41), atrazina (OR=1,18 IC 95%: 1.05-1.32), S-etil-dipropylthiocarbamate (TCPS) (OR=1.37, IC95%: 1.08-1.73), olio di petrolio (OR=1.26, IC 95%: 1.09-1.47), trifluralin (OR=1.15, IC 95%: 1.02-1.30) e con l'insetticida permetrina (OR=1.28 IC 95%: 1.06-1.55)(93).

Numerosi altri studi hanno poi evidenziato che l'esposizione professionale a pesticidi si associa a compromissione della funzione polmonare. Ad esempio uno studio caso-controllo tra addetti alla lavorazione di pesticidi ha indicato che negli esposti vi era una significativa riduzione di FVC (capacità vitale forzata), FEV(volume espiratorio forzato) e PEF (picco di flusso espiratorio) in confronto ai controlli (94).

Un altro studio caso controllo su di 102 lavoratori addetti alla irrorazione di pesticidi e 69 controlli in aziende statali dell'Etiopia ha dimostrato che nei lavoratori addetti nella fascia di età di 15-24 anni era significativamente ridotto FEV1 e FVC rispetto ai controlli (95).

Uno studio simile condotto tra agricoltori in Spagna ha evidenziato che l'esposizione a breve termine ai pesticidi era legato alla riduzione del FEV1, mentre l'esposizione a lungo termine a pesticidi risultava associata con una riduzione in PEF dopo aggiustamento per età, sesso, abitudine al fumo, indice di massa corporea (BMI), altezza, consumo di alcol, polimorfismo di paraoxonase 1 (PON1) e livelli di colinesterasi (96).

Ancora da una indagine condotta su lavoratori agricoli in Sri Lanka è risultato che la riduzione in FEV1 e FVC era presente negli addetti allo spargimento di insetticidi organofosfati (97). Analoghi risultati sono stati trovati in uno studio caso-controllo condotto in Libano (98).

Deterioramento della funzione polmonare si è anche riscontrato per esposizione ad organofosfati o carbammati che inducono inibizione della colinesterasi. In uno studio caso-controllo su agricoltori in India gli esposti a organofosfati e carbammati presentavano una significativa riduzione della FVC, FEV1 e del rapporto FEV1/FVC, FEF( flusso espiratorio forzato) e del PEF, valori tutti significativamente correlati con i livelli di inibizione della colinesterasi (99).

Oltre ad effetti avversi sulla dinamica dei volumi polmonari, le esposizioni professionali a pesticidi possono compromettere anche lo scambio di gas nei polmoni. Due studi su agricoltori in Costa Rica e Western Cape hanno mostrato una relazione a lungo termine tra esposizioni a bassi livelli di paraquat e desaturazione di ossigeno associata all'esercizio fisico, facendo ipotizzare che il paraquat possa alterare gli scambi di gas (100).

Alterazioni sia di tipo ostruttivo che restrittivo sono stati riportati in associazione con esposizioni professionali a pesticidi. Nello studio spagnolo menzionato era diminuito il rapporto FEV1/FVC tra i lavoratori esposti (anche se il cambiamento non è stato significativo) suggerendo quindi anomalie di tipo ostruttivo. Anche in India, l'esposizione a lungo termine ad insetticidi che causano inibizione della colinesterasi è risultato associato con una diminuzione significativa nel rapporto FEV1/FVC.

Nello Sri Lanka, l'esposizione acuta e stagionale a bassi livelli di pesticidi organofosfati tra gli agricoltori è stato associata con un normale rapporto FEV/FVC e a riduzione sia di FVC che FEV1 suggerendo una anomalia di tipo restrittivo (101).

In uno studio nei lavoratori addetti all'irrorazione di pesticidi delle piantagioni di mango in India, l'Autore ha ipotizzato che la compromissione di tipo restrittivo della funzione polmonare fosse legata all'esposizione ad organofosfati e organoclorurati (102).

Come logica conseguenza delle suddette molteplici azioni dei pesticidi sull'apparato respiratorio vi è una comprovata evidenza di associazione fra tali esposizioni e patologie respiratorie croniche, in particolare asma, bronchite cronica e Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), che verranno quindi esaminate singolarmente.

#### *Asma professionale*

Negli ultimi dieci anni, l'asma è stato riconosciuto come la più comune malattia polmonare correlata ad esposizioni professionali e numerosi sono gli studi epidemiologici che correlano in modo significativo l'insorgenza di asma con esposizioni professionale a pesticidi, a cominciare dalla indagine condotta sulla grande coorte di agricoltori in U.S.A. (103).

In un ampio studio condotto in Singapore per la ricerca di fattori di rischio occupazionali per asma e sintomi respiratori, da LeVan et al. è emerso che l'esposizione a vapori di pesticidi (non specificato) era associato con insorgenza da adulti di asma (OR=1.34, IC 95%:1.15-1.56) anche altri sintomi quali tosse non cronica o catarro e secca cronica erano presenti in modo statisticamente significativo negli esposti (104).

Uno studio trasversale condotto tra 1.379 lavoratori agricoli brasiliani ha mostrato che l'esposizione professionale a pesticidi (non specificati) risultava associato ad una maggiore prevalenza di asma ad insorgenza nell'età adulta (OR=1.54, IC 95%: 1.04-2.58) In questo studio, gli autori hanno anche suggerito che l'effetto dell'esposizioni ad antiparassitari circa l'insorgenza di asma era più forte nelle donne che negli uomini (105).

In Canada, un altro studio trasversale su agricoltori di sesso maschile ha suggerito che l'asma era associato con l'uso di insetticidi carbammati (OR=1.8, IC 95%: 1.1-3.1); questo studio è stato il primo che ha segnalato una associazione tra asma e l'uso di insetticidi carbammati, mentre non ha fatto emergere alcuna significativa associazione tra l'asma e l'uso di insetticidi organofosfati (106).

Viceversa il grande studio americano sulla salute degli agricoltori in U.S.A. Agricultural Health Study (AHS) ha evidenziato che in età adulta l'asma era associato con l'esposizione a pesticidi, tra cui

anche gli insetticidi organofosfati, nonché carbammati e erbicidi quali alachlor, atrazina e paraquat (107).

In due studi è stata riscontrata una relazione dose-dipendente tra asma, sintomi di affanno e applicazione di organofosfati (clorpirifos e parathion), erbicidi (atrazina) e paraquat (103, 108).

Hoppin et al. hanno anche dimostrato associazioni altamente significative tra insorgenza in età adulta di asma atopico tra gli agricoltori di sesso maschile e utilizzo di coumaphos (OR=2,34, IC 95%: 1.49-3.70), eptacloro (OR =2.01, IC 95%: 1.30-3.11), parathion (OR= 2.05, IC 95%: 1.21-3.46), dibromoetilene (OR=2.07, IC 95%: 1.02-4.20) ed una miscela - 80/20 - di tetracloruro di carbonio / solfuro di carbonio (OR= 2.15, 95% CI: 1.23-3,76).

Per l'asma non atopico, Hoppin et al. hanno mostrato che il DDT aveva l'associazione più forte (OR 1,41, IC 95%: 1,09-1,84) tra agricoltori di sesso maschile (107).

Tra le donne invece l'esposizioni a pesticidi, quali insetticidi (carbaril, coumaphos, DDT, malathion, parathion, permetrina, forate), erbicidi (2,4-D e glifosato) e un fungicida (metalaxil), era più associata con l'asma atopico che non con quello non atopico (109).

In questo studio gli Autori hanno ipotizzato che chi cresce in una fattoria possa modificare il proprio assetto immunologico favorendo l'insorgenza di asma atopico associato all'uso di pesticidi. Anche un recente studio condotto in Francia, coerentemente con lo studio AHS, ha riscontrato che l'esposizione a pesticidi era più associata con asma allergico (OR = 1.97, IC 95%: 1.43-2.73) che non ad asma non allergico (OR = 1.24, IC 95%: 0.88- 1.76) (110).

Dato che l'antigenicità dei pesticidi è scarsa, l'allergia o l'asma atopico indotto potrebbero essere dovuti ad un effetto indiretto dei pesticidi sul sistema immunitario con rottura dell'equilibrio fra linfociti T-helper (Th-1/Th-2) o alterazioni indotte da stress ossidativo (111).

L'uso dei pesticidi è stato anche associato a riacutizzazioni di asma ed esiti infausti in pazienti con asma professionale. In uno studio di coorte retrospettivo di applicatori di pesticidi all'aperto in Australia, il tasso di mortalità da asma era più alto (SMR = 3.45, IC 95%: 1.39-7.10) nei lavoratori che erano professionalmente esposti agli insetticidi, tra cui il DDT e insetticidi organoclorurati inibitori di acetilcolina esterasi, carbaril e clorpirifos, rispetto alla popolazione generale (112).

#### *Bronchite cronica e BPCO*

Molti studi hanno suggerito che l'esposizione – specie in ambito professionale - ai pesticidi, è correlata con bronchite cronica e broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO). In uno studio caso-controllo su agricoltori in India una maggiore prevalenza di bronchite cronica è stata associata con esposizioni ad organofosfati e carbammati (OR=2.54, IC 95% :1.48-3.74)(113).

Uno studio su lavoratori addetti alla produzione di pesticidi in Polonia ha dimostrato che la maggiore prevalenza di BPCO diagnosticate (19,3% vs 3%, p=0,002) era associata ad esposizioni sul lavoro a pesticidi dopo aggiustamento per abitudine al fumo. Inoltre, vi era una correlazione negativa fra FEV1/FVC e la durata delle esposizioni a pesticidi in questo studio (114).

Uno studio caso-controllo in Libano ha mostrato una relazione simile fra esposizione a pesticidi e bronchite cronica (115).

Nel grande studio americano American Health Study (AHS), Hoppin et al. hanno mostrato che una serie di pesticidi compreso organoclorurati (eptacloro, clordano, DDT, lindano e toxafene), organofosfati (coumaphos, diazinone, diclorvos, malathion e parathion) carbammati, permetrina, erbicidi clorofenossici (2,4,5-TP 2,4,5-T) e due erbicidi (chlorimuron-etile e olio di petrolio) sono risultati significativamente associati con bronchite cronica (116).

Inoltre, sempre dallo studio AHS, è emerso che gli agricoltori con una storia di elevate esposizioni ai pesticidi avevano una prevalenza maggiore di bronchite cronica (OR = 1.85, IC 95%: 1.51-2.25).

Un altro studio, utilizzando il medesimo data-base, ha trovato che l'incidenza di bronchite cronica tra le donne agricoltoressi non fumatrici era significativamente correlata all'utilizzo di cinque pesticidi, insetticidi come diclorvos (OR = 1.63, IC 95%: 1.01-2.61) e DDT (OR = 1.67 IC 95%: 1.13-2.47) ed erbicidi come cianazina (OR = 1.88 IC 95%: 1.00-3.54), bromuro di metile (OR = 1.82 IC 95%: 1.02-3.24) e paraquat (OR = 1.91 IC 95%: 1.02-3.55) (117).

Un ulteriore recente studio trasversale condotto in Francia (Agrican) ha mostrato che il rischio di bronchite cronica tra gli agricoltori era associato in modo statisticamente significativo ad avvelenamento da pesticidi sia per quelli coperti da assistenza sanitaria che per quelli non coperti (rispettivamente OR = 1.67 e OR = 1.64), ma non era associato in modo significativo ad un utilizzo costante di pesticidi, dato questo che suggerisce che episodi di alte dosi di esposizione a pesticidi



(avvelenamenti acuti) probabilmente contribuiscono a BPCO più di esposizioni di basso livello a lungo termine (118).

### Sistema Nervoso

La neurotossicità è uno dei più importanti effetti della esposizione a pesticidi e per esposizioni acute (avvelenamenti) ad esempio ad organofosfati non solo si riscontrano nell'immediato sintomi a carico del sistema nervoso centrale sia di tipo sensoriale che motorio a rischio della vita, ma anche sequele neuropsichiatriche a lungo termine quali deficit nel rilevamento di stimoli e nell'elaborazione delle informazioni, carenze nella attenzione, nella memoria e maggiore incidenza di depressione (119-121).

Allo stesso modo anche l'esposizione cronica a questi agenti può essere associata con anomalie neurocomportamentali tra cui l'ansia, la depressione, sintomi psicotici, deficit nella memoria a breve termine, nell'apprendimento, nell'attenzione, nell'elaborazione delle informazioni e con sintomi extrapiramidali.

Particolarmente preoccupante poi appare essere l'esposizione in utero a pesticidi non solo per la maggiore incidenza nei primi anni di vita di esiti negativi sulla sfera cognitiva, comportamentale, sensoriale, motoria, ma anche per lo sviluppo di patologie neurodegenerative croniche in età adulta (122).

I meccanismi con cui la neurotossicità si può esplicare sono molteplici: molto sinteticamente ricordiamo che vi può essere una interferenza con la conduzione neurale in seguito ad alterazione dei canali ionici dipendenti dalla tensione elettrica  $Na^+/K^+$  ATPasi, una interferenza con la trasmissione neuronale per inibizione dell'acetilcolina esterasi, oppure una alterazione delle funzioni mitocondriali o l'avvio di segnali pro-infiammatori (123).

Gli insetticidi organofosfati in particolare inibiscono irreversibilmente l'acetilcolinesterasi, enzima essenziale alla funzionalità nervosa, impedendo di conseguenza la degradazione dell'acetilcolina, che si concentra nello spazio sinaptico e comporta gravi alterazioni della neurotrasmissione colinergica. Le conseguenze sono modificazioni nei processi cognitivi (memoria, attenzione), nei cicli sonno-veglia, nell'attivazione comportamentale, nella regolazione del movimento e del sistema cardiovascolare e nel controllo del sistema endocrino.

Ad esposizioni elevate organoclorinati, organofosfati e piretroidi possono influenzare sia il sistema centrale nervoso (CNS) che il sistema nervoso periferico (PNS) nei mammiferi (124).

In base ai principali meccanismi di neurotossicità i pesticidi possono essere distinti in 3 grandi gruppi come da Tabella 3.

*Tabella 3: Classificazione dei pesticidi in base alla neurotossicità*

<b>Neural conduction interferer</b>	
Organochlorine	dichlorodiphenylethanes (DDT, DDE) cyclodienes (aldrin, $\alpha$ -chlordane, $\gamma$ -chlordane, cis-nonachlor, trans-nonachlor, oxychlordane, toxaphene parlar 26, toxaphene parlar 50) hexachlorocyclohexanes (hexachlorobenzene, $\beta$ -hexachlorocyclohexane, $\gamma$ -hexachlorocyclohexane) chlordecone (Mirex)
Pyrethroid	pyrethrin, tetramethrin
<b>Acetylcholine esterase inhibitor</b>	
Organophosphate	parathion, matathion, methyl parathion, chlorpyrifos, diazinon,
Carbamate	aldicarb, carbofuran, carbaryl, ethienocarb, fenobucarb
<b>Pro-inflammatory stimulator</b>	
Chlorophenoxy herbicides	2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic Acid)



In realtà questa rappresentazione appare molto schematica e, ad esempio, per gli organofosfati, noti per l'azione inibitrice sulla acetilcolina esterasi, sono stati di recente ipotizzate numerose altre modificazioni di enzimi e proteine, modificazioni che avvengono indipendentemente dall'azione canonica sulla acetilcolina esterasi: in particolare sembrano essere coinvolte proteine fondamentali nei processi di trasporto assonale, neurotrofine e proteine coinvolte nelle funzioni mitocondriali (125).

Parimenti anche l'esposizione a basse dosi di pesticidi organoclorurati ed organofosfati si è dimostrata in grado di interagire con una grande quantità di enzimi, proteine, recettori e fattori di trascrizione, con alterazioni che riguardano anche il metabolismo lipidico, glucidico e la detossificazione da xenobiotici. A proposito di quest'ultima azione si segnala che molti insetticidi, in particolare piretroidi, sono formulati con adiuvanti che ne migliorano l'efficacia impedendone il metabolismo nella specie bersaglio; uno dei più usati è il piperonilbutossido, inibitore delle ossidasi dipendenti dal citocromo P-450 e potenzialmente in grado di interferire con catabolismo di molti xenobiotici. (126).

Per le principali patologie neurodegenerative quali Morbo di Parkinson, SLA e Alzheimer vi sono importanti evidenze che correlano la loro insorgenza con l'esposizione a lungo termine e a basse dosi di pesticidi quali in particolare paraquat, maneb, dieldrin, piretroidi ed organofosfati. Queste sostanze sono in grado di esplicare la loro tossicità in quanto inducono stress ossidativo, disfunzioni mitocondriali, interazioni con la proteina pre-sinaptica sinucleina alfa, correlata in particolare al Parkinson e perdita di neuroni.

#### *Morbo di Parkinson*

La malattia di Parkinson è una malattia degenerativa progressiva del sistema nervoso centrale, caratterizzata dalla degenerazione e perdita dei neuroni dopaminergici della substantia nigra.

I neuroni dopaminergici sono essenziali per le funzioni motorie e la loro perdita comporta sintomi quali tremori, rigidità e rallentamento nei movimenti, perdita di equilibrio. I trattamenti sono solo sintomatici ed i pazienti presentano un più alto tasso di mortalità in confronto alla popolazione generale (127).

La causa di questa degenerazione non è compiutamente nota, ma l'eziologia è certamente multifattoriale, comprendendo fattori di predisposizione genetica ed esposizioni ambientali.

Solo nel 10% dei casi i fattori genetici sono predominanti, mentre nei restanti casi - definiti sporadici o idiopatici - la precisa origine resta sconosciuta ed è stato ipotizzato il ruolo di numerosi fattori esogeni: traumi, infezioni, esposizione a manganese e metalli pesanti, ma soprattutto esposizione a pesticidi ed elevati livelli di alcuni pesticidi sono stati ritrovati nel siero di pazienti con malattia di Parkinson (128).

Fra le prime categorie di sostanze indagate vi furono fumiganti, fungicidi, insetticidi e topicidi (ma anche l'uso abituale di alcuni erbicidi è apparso di particolare rilievo per l'insorgenza della malattia nei lavoratori esposti (129-132).

Nello studio di Kamel, (132) condotto sull'ampia coorte degli agricoltori americani (AHS), è emerso che anche l'esposizione residenziale - e non solo professionale - rappresentava un fattore di rischio per la malattia. Le categorie di pesticidi maggiormente responsabili per insorgenza di Parkinson sono risultati gli organofosforici, i carbammati, gli organoclorurati, i piretroidi che hanno, come ben noto, specifici effetti sulla trasmissione nervosa (133).

Molto numerosi sono anche gli studi epidemiologici di popolazione che si sono susseguiti e che hanno dimostrato una maggiore incidenza della malattia di Parkinson nelle persone esposte ai pesticidi; una meta-analisi del 2012 pubblicata da Van der Mark et al. ha rivisto la letteratura aggiornata, tra cui 39 studi caso-controllo, quattro studi di coorte e tre studi trasversali e ha evidenziato che l'esposizione ad insetticidi ed erbicidi comporta complessivamente un rischio cumulativo statisticamente significativo pari a 1.62; in questa indagine nessun rischio è stato trovato per esposizione a fungicidi (134).

Una ulteriore revisione sistematica di studi epidemiologici è stata condotta nel 2013 da Allen ed al. con l'obiettivo di fare una valutazione critica della correlazione fra malattia di Parkinson ed esposizione a pesticidi.

Gli esiti riportati negli studi rilevanti sono stati riuniti in una meta-analisi per quantificare la dimensione degli stessi risultati: è risultata una associazione statisticamente positiva fra Parkinson ed esposizione complessiva (sia occupazionale che non) a pesticidi pari a 1.42 (IC 95%: 1.32- 1.52) e pari a 1,49 (IC 95%: 1.34-1.66) per la sola esposizione professionale. Le esposizioni professionali contestuali ad erbicidi e insetticidi sono risultate le più pericolose (135).

Anche se i meccanismi che sono alla base della malattia non sono ancora pienamente compresi, molti studi hanno indicato che stress ossidativo e disfunzioni mitocondriali svolgono il ruolo patogenetico principale (136).

Di particolare interesse il ruolo svolto dal rotenone, un insetticida che si è dimostrato in grado, dopo somministrazione in animali da laboratorio, di indurre le lesioni ed i sintomi tipici del Parkinson: questo fatto, come già in precedenza esposto, ha permesso la realizzazione di un modello di laboratorio di estrema utilità per lo studio e la comprensione della malattia (137).

Il rotenone in particolare ha dimostrato di indurre, oltre alla degenerazione neuronale delle substantia nigra, disfunzioni mitocondriali, alterazioni delle catene di trasporto degli elettroni ed in definitiva questo modello racchiude e sintetizza i molteplici aspetti di danno ossidativo che sono presenti nel Parkinson (138).

Nel 2013 il Parkinson è stato riconosciuto come malattia professionale in Francia.

#### *Morbo di Alzheimer*

La Malattia di Alzheimer (AD) è la malattia neurodegenerativa più comune in tutto il mondo ed è previsto un aumento di 3 volte nel corso dei prossimi 40 anni (139).

La forma più comune di Alzheimer è la forma ad insorgenza tardiva, che si sviluppa di solito dopo i 60 anni di età. I fattori eziologici non sono ancora del tutto chiari, ma includono, fattori ambientali, genetici e stile di vita. Anche se vi è un crescente elenco di geni che predispongono alla malattia, solo la presenza di un allele della apolipoproteina E4 (APO E4) comporta un rischio relativamente alto di sviluppare la malattia (RR circa 2-3). Cumulativamente i più di 10 geni identificati sono coinvolti in meno del 5% dei casi di Alzheimer. Fra i fattori ambientali sono stati in particolare indagate le esposizioni professionali a metalli, solventi e pesticidi; a tutt'oggi le prove dell'implicazione dei pesticidi nello sviluppo del Morbo di Alzheimer sono minori rispetto al Parkinson, anche se molto recentemente si sono aggiunte interessanti evidenze. (140-142)

Uno studio del 2009, condotto su un numero limitato di pazienti aveva evidenziato che i livelli sierici di diclorodifenildicloroetilene (DDE), il metabolita del diclorodifeniltricloroetano, meglio noto come DDT, erano risultati elevati in un piccolo numero di pazienti con AD (n = 20) (128).

Nel 2010 è poi stato pubblicato un ampio studio di coorte longitudinale che ha dimostrato come le persone anziane che vivono in una zona agricola mostrano un più alto tasso di deficit di performance cognitiva e rischio di malattia di Alzheimer (143).

Quando i ricercatori hanno specificamente testato i pesticidi che hanno una maggior tossicità per il Sistema Nervoso Centrale hanno trovato un'associazione diretta e statisticamente significativa tra esposizione professionale a organofosfati, inibitori della acetilcolinesterasi e rischio di sviluppare la malattia di Alzheimer tardivamente nella vita (144).

Anche un altro studio ecologico condotto in Andalusia, ove esistono aree con livelli diversificati di pesticidi, ha evidenziato che le persone che vivono nelle zone più contaminate hanno un aumento del rischio di malattia di Alzheimer, come pure di altre patologie neurodegenerative (Parkinson, sclerosi multipla) e psichiatriche (psicosi e tentativi di suicidio) (145).

Del tutto recentemente Richardson et altri hanno ampliato la precedente indagine del 2009 per indagare l'associazione tra livelli sierici di DDE e Alzheimer e per verificare se l'assetto genotipico dell'apolipoproteina E (APOE) modifica il rischio. Lo studio di tipo caso-controllo è stato condotto misurando i livelli sierici di DDE (metabolita del DDT) in 79 controlli e 86 casi di AD. I risultati hanno mostrato che i livelli di DDE erano, in modo statisticamente significativo, 3.8 volte più alti nei pazienti con Alzheimer rispetto ai controlli. Il più alto terzile di livelli di DDE era associato ad un aumento del rischio di AD (OR= 4.18 IC 95%: 2.54 -5.82) e a punteggi statisticamente più bassi del Mini-Mental State Examination. I punteggi del Mini-Mental State Examination nel più alto terzile di DDE erano nettamente inferiori nella sottopopolazione portatrice dell'allele APOE ε4 rispetto ai portatori dell'allele APOE ε3. Inoltre i livelli sierici di DDE erano altamente correlati con i livelli cerebrali di DDE. Aumentati livelli di DDE nel siero sono quindi associati ad un aumentato rischio di AD e i portatori dell'allele APOE ε4 possono essere più sensibili agli effetti del metabolita del DDT.

Sia il DDT che DDE aumentano i livelli di una proteina precursore dell'amiloide, fornendo plausibilità meccanicistica per l'associazione di esposizione a tali sostanze con Alzheimer.

Studi in vitro, condotti nel corso di questa indagine, hanno poi documentato che l'esposizione di cellule di neuroblastoma umano a DDT o DDE comporta un aumento dei livelli della proteina precursore dell'amiloide (146).

### *Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)*

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è la forma più comuni delle malattie del motoneurone ed è caratterizzate da degenerazione del motoneurone sia superiore che inferiore. I sintomi includono debolezza rapidamente progressiva, atrofia muscolare e fascicolazioni, muscolo spasticità, disartria disfagia e una diminuzione della capacità di respirare fino all'exitus invariabilmente fatale. Independentemente da SLA familiare, che può essere facilmente esclusa, non vi è alcuna causa nota per questa malattia, ma molti potenziali fattori di rischio – fra cui esposizioni ad agenti chimici - sono stati ipotizzati (147-148).

Un grande studio caso-controllo condotto da McGuire e colleghi nel 1997 è stato il punto di partenza delle indagini che hanno correlato pesticidi e SLA. In questo studio, è stata valutata l'esposizione professionale a tre gruppi di sostanze chimiche, solventi, metalli e pesticidi ed i risultati hanno mostrato il ruolo predominante degli agrochimici nella maggior parte dei casi di SLA (149).

Nel corso dell'ultimo decennio, ulteriori diverse segnalazioni hanno indicato una relazione fra sviluppo di SLA ed esposizione a pesticidi e nel 2012 è stata pubblicata una metanalisi condotta da Kamel ed al. per indagare il rischio di SLA in associazione a pesticidi nel loro insieme: la metanalisi ha evidenziato un Odds Ratio (OR) statisticamente significativo al 95% pari a 1,9. Sempre da questo Autore è stato anche indagato il rischio di SLA in associazione a specifiche molecole nell'ampia coorte degli agricoltori americani. La coorte ha incluso 84.739 soggetti fra agricoltori privati e loro coniugi, arruolati nell'indagine fra il 1993 ed il 1997. I dati di mortalità raccolti fino al 2010 hanno documentato 41 decessi per SLA ed evidenziato aumenti di rischio per esposizione a pesticidi organoclorinati (OR =1.6), piretroidi (OR=1.4), erbicidi (OR=1.6), fumiganti (OR=1.8); anche per esposizione ad aldrin, dieldrin, DDT e toxafene il rischio è risultato sempre elevato (OR rispettivamente 2.1, 2.6, 2.1, 2.00). Tutti i suddetti rischi non sono statisticamente significativi, ma ciò non deve stupire data la rarità della patologia (150).

Una ulteriore metanalisi sempre del 2012 che ha preso in esame 6 studi caso-controllo ed uno studio di coorte ha evidenziato un aumento del rischio in particolare fra i maschi (151).

Una review del 2013 di Trojsi F. ed al. condotta per indagare la correlazione fra fattori ambientali e sviluppo di SLA ha evidenziato, oltre al ruolo prioritario dell'esposizione a pesticidi, l'importanza di fattori genetici predisponenti. In particolare sembra che nei pazienti di SLA vi sia una carenza nei processi di detossificazione di pesticidi, metalli pesanti ed agenti chimici in generale. Questa carenza sarebbe legata a polimorfismi nella famiglia dei geni della metallothioneina, che codificano anche per la glutation sintetasi e fattori di trascrizione. A questo proposito c'è un crescente interesse sul ruolo patogenetico ricoperto dai geni della paraoxonasi, di cui il PON 1 è il più studiato in quanto codifica per una proteina A-esterasi paraoxonasi 1 in grado di detossificare gli organofosfati: mutazioni che coinvolgono tali geni porterebbero quindi all'esplicazione di una maggiore tossicità di questa famiglia di pesticidi, osservazioni che non sono tuttavia confermate in modo unanime da tutti gli studi (152).

### *Diabete*

Il diabete sta diventando una vera epidemia in tutto il mondo: si calcola che ci siano attualmente 347 milioni di diabetici e che le morti diabete siano destinate a raddoppiare tra il 2005 e il 2030 (<http://www.who.int/diabetes/en/index.html>). A differenza delle malattie neurodegenerative prima affrontate in cui le conoscenze circa i fattori di rischio sono ancora molto aleatorie, per il diabete, soprattutto di tipo 2, sono stati identificati importanti fattori di rischio, tra cui dieta, obesità e sedentarietà.

Vi è comunque una crescente mole di studi scientifici che correla l'insorgere della malattia ad esposizioni ambientali, in particolare a Persistent Organic Pollutants (POP's) fra cui si annoverano numerosi pesticidi (153).

Modelli sperimentali in animali da laboratorio hanno permesso ai ricercatori di studiare gli effetti dell'esposizione a pesticidi sulla omeostasi glicemica ed è emerso che in particolare i pesticidi organofosforici (PO) alterano l'omeostasi del glucosio e causano insulino-resistenza e diabete di tipo 2. La resistenza all'insulina è una malattia metabolica complessa, punto di arrivo di molteplici percorsi eziopatogenetici. Una revisione dei meccanismi molecolari che correlano l'esposizione ad organofosfati con l'insorgenza di insulino-resistenza è stata di recente pubblicata (154).

In sintesi la formazione di prodotti finali della glicazione, l'accumulo di metaboliti lipidici, l'attivazione di percorsi infiammatori e lo stress ossidativo sono tutti implicati nella patogenesi

dell'insulino-resistenza; a loro volta questi processi molecolari attivano una serie di percorsi di stress che coinvolgono la famiglia delle serina- chinasi, che, a loro volta, esplicano un effetto negativo sul segnale insulinico. Dati sperimentali e clinici suggeriscono che tutti questi meccanismi possono essere attivati da una esposizione a pesticidi ed in particolare ad organofosfati.

Diversi sono gli studi epidemiologici che correlano l'esposizione a pesticidi con il diabete (155-156). In particolare lo studio di Montgomery (156), condotto sull'ampia coorte degli agricoltori americani (AHS), ha evidenziato su 33.457 applicatori professionali di pesticidi che per sette specifici prodotti (aldrin, chlordane, eptachlor, dichlorvos, trichlorfon, alachlor e cyanazine) vi era un aumento del rischio di diabete sia per un uso continuativo sia per un uso di almeno 100 giorni durante il corso della vita. In particolare coloro che avevano usato per almeno 100 giorni durante la vita insetticidi organoclorurati come aldrin, chlordane, eptachlor avevano un incremento del rischio di insorgenza del diabete rispettivamente del 51%, 63%, e 94%. Anche un ulteriore, recente studio ha segnalato l'esistenza di una relazione fra esposizione a pesticidi e diabete anche nell'Africa sub sahariana, dove le popolazioni appaiono geneticamente più predisposte alla malattia e presentano livelli di pesticidi ancor più elevati rispetto alle popolazioni occidentali (157). E' stato anche suggerito che l'esposizione a pesticidi possa promuovere il diabete attraverso una interazione con altri fattori di rischio noti per la malattia quali l'obesità: ciò avverrebbe attraverso una alterazioni dei circuiti nervosi che regolano il comportamento alimentare o alterando la differenziazione degli adipociti (158).

Del tutto recentemente sono stati pubblicati i risultati di un ulteriore studio condotto sull'ampia coorte degli agricoltori americani (AHS). L'indagine ha riguardato 13637 mogli di agricoltori in Iowa e North Carolina che avevano segnalato di non avere mai personalmente applicato o preparato pesticidi. I risultati, dopo gli opportuni aggiustamenti (stato, età, massa corporea) hanno dimostrato che cinque pesticidi erano positivamente associati con diabete incidente (n=688; 5%): tre organofosfati, fonfos (HR=1.56, 95% CI 1,11-2,19), forate (HR=1.57, 95% CI 1,14-2,16) e paration (HR=1.61, 95% CI 1,05-2,46); il dieldrin organoclorato (HR=1,99, IC 95% 1,12-3,54); e l'erbicida 2,4,5-T / 2,4,5-TP (HR=1,59, IC 95% 1,00-2,51) (159).

#### Patologie cardiovascolari

Un certo numero di studi correla l'esposizione a pesticidi con l'insorgenza di malattie cardiovascolari. Uno dei primi studi fu condotto in Oregon e dimostrò una correlazione fra ipertensione e lavoratori esposti (160); a questo si aggiunsero ulteriori segnalazioni, anche sperimentali, di un maggior rischio di aterosclerosi (161-162).

Una recente indagine condotta con questionari fra i veterani del Vietnam esposti all'Agente Arancio, ha evidenziato fra coloro che erano stati più esposti un piccolo ma significativo incremento del rischio di ipertensione (OR, 1.03) e iperlipemia (OR, 1.05) (163).

Diversi studi per indagare questo rischio sono stati condotti sull'ampia coorte degli agricoltori americani (AHS): un lavoro del 2009 ha indagato sia la mortalità per infarto che i casi di infarto non fatali in relazione all'esposizione a 49 pesticidi. Mentre è stata confermata una forte associazione con i fattori di rischio noti (in particolare abitudine al fumo ed età) non è risultato alcuna evidenza di una relazione dose-risposta con alcun tipo di pesticida sia considerati cumulativamente che singolarmente ed è emerso solo un piccolo aumento del rischio per infarto del miocardio sia fatale che non fatale in relazione all'uso di pesticidi (164).

Un ulteriore recente aggiornamento, condotto sempre su questa coorte, non ha evidenziato alcuna relazione fra mortalità per infarto ed esposizione a pesticidi (165).

Interessanti risultati sono viceversa emersi da indagini che hanno indagato l'assetto lipidico in relazione a contaminanti organici persistenti (POP's), compreso pesticidi. Una ampia indagine è stata condotta in Alabama, ad Anniston, sito industriale della Monsanto dal 1929 al 1971, dosando sul siero di 575 residenti in buona salute la concentrazione di 35 PCB, 9 pesticidi organoclorinati, il colesterolo totale ed LDL e l'assetto lipidico totale. I risultati hanno evidenziato una correlazione fra più elevati livelli di PCB e pesticidi ed incremento di lipidi totali, trigliceridi e colesterolo totale con pattern diversi fra i diversi congeneri dei PCB ed i diversi pesticidi; fra questi ultimi esaclorobenzene (HCB) e chlordane hanno mostrato la più forte associazione con l'assetto lipidico (166).

Un analogo studio è stato condotto ad Uppsala, in Svezia: sul siero di 589 residenti sono stati misurati i livelli di 23 diversi POP's: 16 PCB, 5 pesticidi organoclorurati e un congenere della diossina. I risultati hanno confermato che queste sostanze sono correlate a cambiamenti nell'assetto lipidico ed in

particolare a colesterolo LDL, potendo così spiegare l'associazione fra POP's, aterosclerosi e patologie cardiovascolari (167).

Interessanti risultati sul legame fra esposizione prenatale a DDT ed insorgenza di ipertensione prima dei 50 anni sono giunti da uno studio condotto nella Baia di San Francisco sulla coorte di donne gravide fra 1959 e 1967 arruolate nello studio "Child Health and Development Studies". In campioni di siero proveniente da 527 donne raccolti e stoccati prima del parto è stato dosato il DDT e, a distanza di anni, sulle figlie di età fra i 39 e 47 anni, si ottenute informazioni sulla incidenza di ipertensione. I risultati hanno dimostrato che l'esposizione prenatale a DDT era fortemente associata all'ipertensione: per medi/alti terzili di DDT il rischio relativo aggiustato (adjusted hazard ratio) è risultato pari a 3.6 (IC 95%: 1.8 - 7.2) e per il più basso terzile pari a 2.5 (IC 95%: 1.2- 5.3) (168).

Da una recente indagine condotta sulla coorte nello studio sugli agricoltori americani (AHS) è emerso che anche i disordini ipertensivi in gravidanza, compreso l'eclampsia, sono risultati associati in modo statisticamente significativo con l'esposizione sia professionale che residenziale a pesticidi durante il primo trimestre di gravidanza: per l'ipertensione il rischio relativo (RR) per esposizione residenziale e professionale è risultato rispettivamente pari a 1.27; (IC 95%: 1.02–1.60) e 1.60 (IC 95%: 1.05–2.45) e per l'eclampsia rispettivamente pari a 1.32 (IC 95%: 1.02–1.70) e 2.07 (IC 95%: 1.34–3.21) (169).

#### Patologie autoimmuni

Ci sono sporadiche segnalazioni di associazione fra pesticidi, in particolare organoclorurati e patologie autoimmuni come *lupus eritematoso sistemico e artrite reumatoide*. In una indagine condotta da Parks ed al. è emerso che l'uso di insetticidi, rispetto al non uso, era associato ad un aumentato rischio di artrite reumatoide e lupus con un trend statisticamente significativo in funzione della frequenza (HR 2.04, IC 95%: 1.17-3.56) per  $\geq 6$  volte/anno) e della durata (HR 1.97, IC 95%: 1.20-3.23) per  $\geq 20$ anni) (174). Una ampia revisione è stata di recente condotta dallo stesso Autore, con particolare riguardo all'esposizione ad organo clorurati (171). Esistono anche segnalazioni di associazione fra pesticidi e sindrome da stanchezza cronica, patologia correlata in special modo ad organofosfati ed indagata in comunità rurali e fra i veterani del Vietnam esposti all'Agente Arancio (172-174).

#### Patologie renali

Sufficientemente consistenti sono le segnalazioni fra pesticidi e *patologie renali*. Uno studio condotto in province del Centro-Nord dello Sri Lanka ha documentato una significativa correlazione fra fattori ambientali di tipo residenziale in aree rurali e nefropatie ad insorgenza tardiva ed insufficienza renale, specialmente fra gli uomini, nella popolazione di età fra i 40 ed i 60 anni (175). Altri Autori hanno evidenziato come l'esposizione a pesticidi che inibiscono la colinesterasi si associ ad insufficienza renale e come pazienti che presentano ridotta filtrazione glomerulare ed aumentato stress ossidativo presentino livelli ematici più elevati di pesticidi organoclorurati (176-177).

#### Disordini riproduttivi

I disordini della sfera riproduttiva comprendono tutte le condizioni in cui la capacità di procreare è compromessa, problema questo che è in drammatico aumento specie nei paesi più sviluppati.

Agenti esogeni e tossici in generale sono ritenuti fra i fattori di rischio più rilevanti e fra essi soprattutto i pesticidi risultano, da una vastissima mole di letteratura, in grado di alterare in modo significativo le funzioni riproduttive (178-180).

Una ulteriore, accurata revisione sull'argomento è stata anche di recente pubblicata (181).

La maggior parte dei pesticidi, in particolare gli organofosfati, possono alterare la qualità del seme in vari modi: riduzione della densità, motilità e numero degli spermatozoi, inibizione della spermatogenesi, aumento delle anomalie al DNA e alterazioni della loro morfologia, riduzione del volume e peso di testicoli, epididimo, vescicole seminali e prostata. Vi possono essere inoltre alterazioni dei livelli di testosterone per inibizione della attività testicolare, variazioni degli ormoni ipofisari e dell'attività degli enzimi antiossidanti a livello testicolare: tutti questi effetti sono ben comprensibili se si pensa all'azione di interferenti endocrini svolta da molte di queste sostanze. Si sono quindi osservati come conseguenza effetti antiandrogeni con demascolinizzazione, incremento dell'abortività spontanea, alterato rapporto maschi/femmine e cambiamenti nello sviluppo puberale. I principi attivi maggiormente responsabili di questi effetti sono: DDT, aldrin, chlordane, dieldrin, endosulfan, atrazina, vinclozolin.

### Malformazioni e difetti di sviluppo

Con questi termini si intendono le anomalie strutturali o funzionali esistenti prima o al momento della nascita in grado di provocare disabilità fisiche o mentali, con livelli di gravità variabili da lieve a fatale; alcune di queste condizioni sono segnalate in aumento (ipospadia) e complessivamente rappresentano la prima causa di morte nei primi anni di vita.

Importanti correlazioni fra esposizione a pesticidi (in particolari erbicidi), malformazioni, morte intrauterina, ritardi di crescita, alterazioni nell'impianto sono giunte da studi sperimentali (182), ma anche da studi epidemiologici di sorveglianza sui veterani americani del Vietnam, coorte in cui è stata documentato un aumentato rischio di spina bifida ed anencefalia (183).

Ulteriori altri studi al riguardo sono stati condotti e da una revisione che ha preso in esame 22 studi (13 condotti sulla popolazione vietnamita e su popolazioni esposte all'agente arancio ma non vietnamite) è emerso un rischio relativo complessivo e statisticamente significativo (RR=1,95), rischio che è risultato nettamente più elevato quando sono stati considerati i soli studi condotti in Vietnam (RR=3,00; CI 95%: 2,19-4,12) (184).

Altri studi sono stati condotti per indagare specificamente la correlazione fra pesticidi e malformazioni urogenitali, in particolare ipospadia ed è emersa un più alto rischio per esposizione prenatale sia materna che paterna (185). Questi risultati non devono stupire e sono coerenti – se si tiene conto dell'affinità fra pesticidi e diossine e del fatto che i pesticidi possono essere contaminati da diossine - con altri risultati che segnalano un maggior rischio di malformazioni urogenitali, specie maschili, nei nati da donne esposte a più alti livelli di diossine emesse da inceneritori (186).

Un altro studio caso/controllo ha indagato il rischio correlato all'esposizione a 57 gruppi di sostanze e 292 principi attivi: per alcuni agenti fra i quali monoclorofenoli, erbicidi, insetticidi come aldicarb, dimethoate, phorate e oli di petrolio si è rilevato un aumento del rischio con OR variabile da 1,9 a 2,9 (187).

Di recente sono stati anche indagati i rischi connessi con l'esposizione occupazionale materna preconcezionale ad una vasta serie di pesticidi usati singolarmente o in miscela: è emerso un aumento del rischio, anche se non sempre statisticamente significativo, per tutte le malformazioni del tubo neurale e per la sola spina bifida in seguito a esposizione ad erbicidi più insetticidi; per esposizioni cumulative a erbicidi, insetticidi, fungicidi sono emersi rischi per anencefalia e encefalocele (188).

L'esposizione occupazionale a pesticidi è risultata un fattore di rischio anche per gastroschisi (OR=1,88; IC 95%: 1,16-3,05) per le donne di 20 o più anni, ma non per le donne più giovani (189).

Anche se questi studi necessitano di ulteriori conferme è indubbio che l'esposizione preconcezionale e prenatale è il momento più critico per il passaggio di molecole estranee che possono esercitare il loro potenziale effetto di induzione di alterazioni genetiche, difetti delle cellule neuronali, interferenze con il sistema endocrino, stress ossidativo e tutto ciò è stato proposto come principale meccanismo di compromissione della salute umana (190).

### Malattie della tiroide

Le disfunzioni tiroidee sono in costante incremento nei paesi occidentali e si calcola che negli U.S.A vi sia una prevalenza di tali patologie del 7,5%. Fattori di rischio noti sono l'età, la familiarità ed il genere femminile, tuttavia numerosi sono anche i fattori ambientali implicati in tali patologie e fra questi sostanze con azione di interferenti endocrini, quali in particolare diossine, PCB e pesticidi (191).

I meccanismi attraverso cui i pesticidi possono alterare la funzionalità della tiroide sono molteplici: interferenze a livello dell'asse ipotalamo ipofisario, ostacolato apporto di iodio alla tiroide per inibizione della proteina NIS (il complesso trasportatore sodio-ioduro), aumento dell'escrezione di ormoni tiroidei o loro ridotto assorbimento cellulare, alterata attività trascrizionale dei recettori degli ormoni tiroidei con conseguente iper/ipo funzione dei geni regolatori della attività ormonale.

Uno studio condotto nell'ambito dell'AHS in Iowa e North Carolina ha preso in esame il rischio di ipo-ipertiroidismo fra le mogli degli agricoltori americani in relazione all'uso/non uso di organoclorurati, valutando anche il rischio per esposizione ad erbicidi, insetticidi, fungicidi e fumiganti. Si è riscontrata una prevalenza di malattie tiroidee clinicamente diagnosticate pari al 12,5% con una prevalenza di ipotiroidismo e ipertiroidismo rispettivamente del 6,9% e 2,1%. L'esposizione ad organoclorurati e fungicidi ha comportato un incremento notevole del rischio di ipotiroidismo: per esposizione ad organoclorurati OR=1,2 (IC 95% 1,0-1,6) e per esposizione a fungicidi OR=1,4 (IC 95% 1,1- 1,8).

In particolare per esposizione al fungicida benomil si è avuto un OR = 3.1 (IC 95%:1.9-5.1) e per esposizione a mancozeb un OR=2.2 (IC 95% 1.5, 3.3). Il mancozeb è risultato l'unico pesticida associato in modo statisticamente significativo anche con ipertiroidismo (OR = 2.3 IC 95%: 1.2 - 4.4). Ciò a conferma della complessità delle azioni svolte da questo composto sulla funzione endocrina che può essere quindi sia soppressa che iperstimolata.

Per esposizione all'erbicida paraquat è risultato un OR=1.8 (IC 95% 1.1-2.8); non sono emersi rischi per esposizioni ad altri diserbanti, così pure per fumiganti, organofosfati, piretroidi, o carbammati (192).

Un ulteriore studio nella medesima coorte dell'AHS, ma questa volta prendendo in esame i 22.246 maschi, ha valutato l'associazione tra l'uso di 50 diversi pesticidi e le patologie tiroidee. E' emersa una aumentata probabilità di ipotiroidismo con l'uso degli erbicidi 2,4-D, 2,4,5-TP, alaclor, dicamba e olio di petrolio. Anche l'esposizione ad otto insetticidi organoclorurati (clordano, DDT, eptacloro, lindano, e toxafene), organofosfati (diazinone e malathion) e carbofuran carbammati è risultata associata a maggior rischio di ipotiroidismo.

Si è anche registrato un incremento del rischio, coerente con la crescente esposizione, agli erbicidi alaclor e 2,4-D ed agli insetticidi aldrin, clordano, DDT, lindano.

Gli Autori concludono che si conferma un'associazione tra ipotiroidismo, insetticidi e specifici erbicidi nei maschi, analogamente a quanto era emerso dal precedente studio, più sopra riportato, condotto sui coniugi (193).

Un altro studio condotto su lavoratori di aziende florovivaistiche esposti ad organofosfati in Messico, ha indagato le variazioni stagionali (in relazione all'attività lavorativa) dei livelli sierici ed urinari di ormoni tiroidei e degli alchilfosfati (biomarkers dell'esposizione ad organofosfati). Si è riscontrata una associazione inversa fra i livelli di ormoni tiroidei e quelli dei metaboliti considerati, a dimostrazione dell'azione inibitrice della funzione tiroidea esercitata dagli organofosfati (194).

Sempre da questi Autori è stata anche indagata l'interazione fra la suscettibilità ad organofosfati, i livelli di paraoxinasi 1 (PON1) e la funzione tiroidea. Lo studio ha dimostrato che quando aumenta l'attività di PON 1 diminuiscono le variazioni dei livelli di ormone tireotropo (TSH) correlate alla presenza dei metaboliti degli organofosfati, a conferma della maggior tossicità tiroidea per esposizione ad organofosfati negli individui geneticamente predisposti con più bassi livelli di PON 1 (195). Numerosi altri studi condotti in Pakistan, Brasile, U.S.A hanno indagato i livelli sierici degli ormoni tiroidei, ma anche di prolattina e ormoni sessuali in funzione dell'esposizione a pesticidi, confermando la complessità degli effetti che queste molecole esercitano sulla salute umana (196- 198).

La concentrazione sierica di 19 pesticidi ed i livelli di T3, T4 e TSH sono stati indagati in 119 bambini di età inferiore ai 15 anni residenti in un'area agricola del Messico. Livelli più elevati di triiodotironina (T3) sono stati riscontrati in relazione all'esposizione a tutti i pesticidi presi in esame ad eccezione di eptacloro e metoxicloro, mentre più elevati livelli di T4 sono stati riscontrati in correlazione a dieldrin, endosulfano e a un metabolita del DDT. Anche se non è ancora chiaro quali potranno essere le conseguenze a lungo termine sulla salute di questi bambini, è evidente che questa coorte andrà attentamente monitorata (199).

Di particolare interesse sono anche le indagini che hanno valutato alla nascita la funzione tiroidea in funzione della presenza di organofosfati: uno studio condotto in Spagna ha evidenziato che elevati livelli placentari di endrin ed endosulfan-sulfato erano associati a valori più bassi di TSH nel cordone ombelicale (200).

Un altro recente studio, condotto in una provincia cinese, ha valutato i livelli degli ormoni tiroidei e di 11 pesticidi su siero materno, cordone ombelicale e placenta di 247 puerpere. Livelli misurabili di esaclorobenzene (HCB),  $\beta$ esaclorocicloesano ( $\beta$ HCH), p-p-diclorodifenildicloroetilene (P-PDDE) erano presenti in oltre il 50% dei campioni e, dopo aggiustamento per i fattori di confondimento, i livelli di TSH sono risultati inversamente associati con i livelli di HCB, confermando l'alterazione della funzione tiroidea per esposizione a tali sostanze (201).

## Conclusioni

E' ormai assodato in modo inequivocabile che l'esposizione a pesticidi comporta non solo gravi ed irreversibili alterazioni a carico dell'ambiente e delle sue varie forme di vita, ma che provoca anche gravi conseguenze sulla salute umana. Questi effetti, dapprima evidenziatisi per esposizioni professionali, riguardano oggi tutta la popolazione umana, stante l'utilizzo sempre più massiccio e diffuso di questi agenti in ogni parte del pianeta. Queste conseguenze sono particolarmente gravi per esposizioni - anche

a dosi minimali - che si verificano durante la vita embrio-fetale e la prima infanzia, comportando il rischio di malattie non solo nell'infanzia, ma anche nelle fasi più tardive della vita. I pesticidi hanno dimostrato di alterare l'omeostasi dell'organismo umano in quanto in grado di indurre molteplici e complesse disfunzioni a carico praticamente di tutti gli apparati, organi e sistemi, comportando quindi patologie di tipo endocrino, nervoso, immunitario, respiratorio, cardiovascolare, riproduttivo, renale. Vi è ormai evidenza di forte correlazione fra esposizione a pesticidi e patologie quali: malattie respiratorie, in particolare asma e broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), diabete, malattie neurodegenerative come il Parkinson, l'Alzheimer e la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), diabete, nonché cancro, vari tipi di disordini riproduttivi, malformazioni fetali, disfunzioni tiroidee. Esistono inoltre prove indiziarie di correlazione fra pesticidi e malattie cardiovascolari, ipertensione, nefropatie croniche, malattie autoimmuni come lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide, sindrome da stanchezza cronica ed invecchiamento.

La possibilità che tali disfunzioni si trasmettano anche alle generazioni future, attraverso soprattutto alterazioni epigenetiche della linea germinale, non può che accrescere le nostre preoccupazioni, stimolandoci a ricercare e realizzare pratiche agronomiche in grado di soddisfare i bisogni alimentari delle popolazioni senza comprometterne in modo, forse irrimediabile, la salute.

Perché non debba ulteriormente crescere l'elenco delle "lezioni imparate in ritardo da pericoli conosciuti in anticipo" crediamo che si debba promuovere senza esitazioni una agricoltura di tipo biologico, la sola in grado di rispettare, ancor prima dell'ambiente, la salute umana ed, in special modo, quella delle generazioni a venire (202).

### **Bibliografia**

- 1) [http://www.who.int/topics/chronic\\_diseases/en/](http://www.who.int/topics/chronic_diseases/en/)
- 2) Mostafalou S<sup>1</sup>, Abdollahi M, 2013 *Toxicol Appl Pharmacol.* Apr 15;268(2):157-77.
- 3) Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives
- 4) Yi SW<sup>1</sup>, Ohrr H, Hong JS, Yi JJ, 2013 *J Prev Med Public Health.* Sep;46(5):213-25. Agent Orange exposure and prevalence of self-reported diseases in Korean Vietnam veterans
- 5) Prüss-Ustün A, Vickers C, Haefliger P et al. 2011 *Environ Health.* Jan 21;10:9. Knowns and unknowns on burden of disease due to chemicals: a systematic review.
- 6) K.; Uehara, S., Yang, H.R., et al. 2011 *Chemosphere*, 82, 25-31 Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China; Korea and Japan.
- 7) Foster W; Chan, S., Platt L. et al. 2000 *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 2954-57 Detection of endocrine disrupting chemicals in samples of second trimester human amniotic fluid.
- 8) Tsatsakis, A.M.; Tzatzarakis, M.N.; Tutudaki, 2008. *Forensic Sci. Int.*, 176, 67-71. Pesticide levels in head hair samples of Cretan population as an indicator of present and past exposure
- 9) Pathak, R.; Ahmed, R.S.; Tripathi, A.K. et al. 2009 *Clin. Biochem.*, 42, 746-749 Maternal and cord blood levels of organochlorine pesticides, Association with preterm labor.
- 10) Burillo-Putze G, Luzardo OP, García CP, et al. 2014 *Gac Sanit.* Feb 18. Exposure to persistent and non-persistent pesticides in a non-occupationally exposed population in Tenerife Island
- 11) Martini CN, Gabrielli M, Vila Mdel C., 2012 *Toxicol In Vitro.* Sep;26(6):1007-13 A commercial formulation of glyphosate inhibits proliferation and differentiation to adipocytes and induces apoptosis in 3T3-L1 fibroblasts.
- 12) Kuster E.; Altenburger R, 2007, *Chemosphere* 68, 751-760. Suborganismic and organismic effects of aldicarb and its metabolite aldicarb-sulfoxide to the zebrafish embryo (*Danio rerio*).
- 13) Salazar-Arredondo, E.; Solis-Herediaa, M.; Rojas-Garcia, E. et al 2008, *Reprod. Toxicol* 25, 455-460 Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion; chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa.
- 14) Costa LG, Cole TB, Vitalone A, Furlong CE, 2005 *Clin Chim Acta.* Feb;352(1-2):37-47 Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity
- 15) Guo Y, Zhang J, Yu R, et al, 2012 *Chemosphere.* May;87(7):709-17 Identification of two new cytochrome P450 genes and RNA interference to evaluate their roles in detoxification of commonly used insecticides in *Locusta migratoria*.
- 16) Lee BW, London L, Paulauskis J et al. 2003 *J Occup Environ Med.* Feb;45(2):118-22 Association between human paraoxonase gene polymorphism and chronic symptoms in pesticide-exposed workers
- 17) Hofmann JN, Keifer MC, Furlong CE et al 2009 *Environ Health Perspect.* Sep;117(9):1402-8. 9 Serum cholinesterase inhibition in relation to paraoxonase-1 (PON1) status among organophosphate-exposed agricultural pesticide handlers
- 18) Eskenazi B, Holland N, Kogut K et al 2014, *Environ Res.* Aug 26;134C:149-157 Organophosphate pesticide exposure, PON1, and neurodevelopment in school-age children from the CHAMACOS study



- 19) González-Alzaga B, Lacasaña M, Aguilar-Garduño C et al 2013 *Toxicol Lett.* Nov 26. 378-4274(13) A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure
- 20) Van Maele-Fabry G, Lantin AC, Hoet P, et al, 2011 *Environ Int.* Jan;37(1):280-91 Residential exposure to pesticides and childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis
- 21) Hoppin J.A., Adgate J.L.; Eberhart M et al 2006 *Environ. Health Perspect* 114,929–935 Environmental exposure assessment of pesticides in farmworker homes.
- 22) Damalas C.A.; Georgiou E.B.; Theodorou M.G. 2006 *Int. J. Environ. Health Res.*, 16, 339–348 Pesticide use and safety practices among Greek tobacco farmers: A survey
- 23) Jindal T.; Singh D.K.; Agarwal H.C 2007 *J. Environ. Sci. Health B* 42, 367–372 Effect of UV radiation and temperature on mineralization and volatilization of coumaphos in water.
- 24) <http://npic.orst.edu/rmppp.htm> , Recognition and Management of Pesticide Poisonings accesso 20 sett. 2014
- 25) Ming Ye, Jeremy Beach, Jonathan W. et al 2013 *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10, 1660-4601 Occupational pesticide exposure and respiratory health
- 26) Whyatt, R.M.; Camann, D.; Perera, F.P et al.; 2005 *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 206, 246-254. Biomarkers in assessing residential insecticide exposures during pregnancy and effects on fetal growth.
- 27) Curl C.L.; Fenske R.A.; Kissel J.C. et al . 2002, *Environ. Health Perspect.* 110, 787-792. Evaluation of take-home organophosphorus pesticide exposure among agricultural workers and their children.
- 28) Lewis RG, Fortune CR, Blanchard FT, et al, . 2001 *Air Waste Manag Assoc.* 51(3):339–351 Movement and deposition of two organophosphorus pesticides within a residence after interior and exterior applications.
- 29) Hore P, Robson M, Freeman N, et al. 2005 *Environ Health Perspect.*; 113 (2):211–219 Chlorpyrifos accumulation patterns for child-accessible surfaces and objects and urinary metabolite excretion by children for 2 weeks after crack-and-crevice application.
- 30) Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WT, et al. 2005 *J Occup Environ Hyg*2(7):357–367; Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes.
- 31) Lu C, Fenske RA, Simcox NJ, Kalman D. 2000 *Environ Res.*;84(3):290–302 Pesticide exposure of children in an agricultural community: evidence of household proximity to farmland and take home exposure pathways.
- 32) Gurunathan S, Robson M, Freeman N, et al. 1998 *Environ Health Perspect.*;106(1) 9-16 Accumulation of chlorpyrifos on residential surfaces and toys accessible to children.
- 33) Coronado GD, Vigoren EM, Thompson B et al, 2006 *Environ Health Perspect.* 114(7):999–1006 Organophosphate pesticide exposure and work in pome fruit: evidence for the take-home pesticide pathway.
- 34) Colt JS, Lubin J, Camann D, et al. 2004 *J Expo Anal Environ Epidemiol.*;14(1):74–83 Comparison of pesticide levels in carpet dust and self-reported pest treatment practices in four US sites.
- 35) Morgan MK, Sheldon LS, Croghan CW et al. 2005; *J Expo Anal Environ Epidemiol* 15(4):297–309 Exposures of preschool children to chlorpyrifos and its degradation product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in their everyday environments.
- 36) Rapporto Nazionale sui pesticidi nelle acque, dati 2009-2010 edizione 2013
- 37) European Commission. Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein; European Commission: Brussels, Belgium, 2007
- 38) US Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Pesticide Residue Monitoring Program 2003
- 39) Legambiente “Pesticidi nel piatto”
- 40) Refstrup, T.K.; Larsen, J.C.; Meyer, O. 2010 *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 56, 174-192. Risk assessment of mixtures of pesticides. Current approaches and future strategies
- 41) Birkhoj M.; Nellesmann C.; Jarfelt K. et al, 2004, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 201, 10-20 The combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides.
- 42) Hernández AF, Parrón T, Tsatsakis AM, et al, 2012 *Toxicology* Jun 21. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health .
- 43) Crépet A, Héraud F, Béchaux C, 2013 *Toxicology.* Apr 16. The PERICLES research program: An integrated approach to characterize the combined effects of mixtures of pesticide residues to which the French population is exposed.
- 44) Perera F, Herbstman J 2011 *Reprod Toxicol* 31(3) 363-373, Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease
- 45) Cohn BA<sup>1</sup>, Wolff MS, Cirillo PM, 2007 *Environ Health Perspect.* Oct;115(10):1406-14. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure.
- 46) Wissem Mnif , Aziza Ibn Hadj Hassine, Aicha Bouaziz, et al, 2011, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 8, 2265-2303; Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review
- 47) Eskenazi, B.; Marks, A.R.; Bradman, A. et al, 2006 *Pediatrics*, 118, 233-241 In utero exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and neurodevelopment among young Mexican American children.

- 48) Damgaard, I.N.; Skakkebaek, N.E.; Toppari, J. et al, 2006 *Environ. Health Perspect.*, 114, 1133-1138. Persistent pesticides in human breast milk and cryptorchidism.
- 49) Ribas-Fito, N.; Cardo, E.; Sala, M. et al 2003, *Pediatrics* 111, 580-585 Breastfeeding exposure to organochlorine compounds and neurodevelopment in infants.
- 50) Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A., 2008 *Curr. Diab. Rep.* 8 (3), 173–178 Mitochondrial dysfunction, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus.
- 51) Kim, J.A., Wei, Y., Sowers, J.R., 2008. *Circ. Res.* 102 (4), 401–414. Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance.
- 52) Ma, Z.A., Zhao, Z., Turk, J., 2012 *Exp. Diabetes Res.* 2012, 703538 Mitochondrial dysfunction and beta-cell failure in type2 diabetes mellitus..
- 53) Johri, A., Beal, M.F., 2012 *J Pharmacol Exp Ther.* Sep;342(3):619-30 Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases
- 54) Martin, L.J., 2012 *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 107, 355–415 Biology of mitochondria in neurodegenerative diseases.
- 55) Gomez, C., Bandez, M.J., Navarro, A., 2007 *Front. Biosci.* 12, 1079–1093 Pesticides and impairment of mitochondrial function in relation with the parkinsonian syndrome.
- 56) Ranjbar, A., Ghahremani, M.H., Sharifzadeh, M., et al, 2010 *Hum. Exp. Toxicol.* 29 (10),851–864 Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain.
- 57) Jamshidi, H.R., G.M.H., Ostad, S.N., et al 2009. *Pest. Biochem. Physiol.* 93(1), 23- 27. Effects of diazinon on the activity and gene expression of mitochondrial glutamate dehydrogenase from rat pancreatic Langerhans islets.
- 58) Pournourmohammadi, S., Ostad, S.N., Azizi, E. et al 2005 *Environ Toxicol Pharmacol.* Jan;19(1):191-6 Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism.
- 59) Lim, S., Ahn, S.Y., Song, I.C. et al, 2009 . *PLoS One* 4 (4), e5186 Chronic exposure to the herbicide, atrazine, causes mitochondrial dysfunction and insulin resistance
- 60) Lee, H.K., 2011 *Diabetes Metab. J.* 35 (3), 207–215.. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: the contribution of dioxin-like substances.
- 61) Lushchak, V.I., Gospodaryov, D.V., 2012. *Oxidative Stress and Diseases.* In Tech.
- 62) Fendri, C., Mechri, A., Khiari, G., et al, 2006 *Encéphale* 32 (2 Pt 1),244–252. Oxidative stress involvement in schizophrenia pathophysiology: a review..
- 63) Ahmad, R., T.A., Tripathi, P., Singh, R. et al, ., 2010 *Singapore Med. J.* 51 (2), 110–115 Studies on lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidant status as indices of oxidative stress in patients with chronic myeloid leukaemia.
- 64) Nathan, F.M., Singh, V.A., Dhanoa, A., et al 2011 *BMC Cancer* 11: 382 Oxidative stress and antioxidant status in primary bone and soft tissue sarcoma.
- 65) Braconi, D.B.G., Fiorani, M., Azzolini, C., et al, 2010 *Free Radic. Res.* 44 (8) 891–906 Oxidative damage induced by herbicides is mediated by thiol oxidation and hydroperoxides production.
- 66) Mostafalou, S., Abdollahi, M., 2012 *Int. J. Pharmacol.* 8 (2), 139–140. The role of environmental pollution of pesticides in human diabetes.
- 67) Singh, C., Ahmad, I., Kumar, A., 2007 *Cell. Mol. Biol.* 53 (5), 19–28 Pesticides and metals induced Parkinson's disease: involvement of free radicals and oxidative stress
- 68) Sharma, H., Zhang, P., Barber, D.S. et al, 2010 *Neurotoxicology* 31 (2), 215–222 Organochlorine pesticides dieldrin and lindane induce cooperative toxicity in dopaminergic neurons: role of oxidative stress.
- 69) Mostafalou, S., Abdollahi, M., Eghbal, M.A et al, 2012 *Adv. Pharm. Bull.* 2 (1), 79–88. Protective effect of NAC against malathion-induced oxidative stress in freshly isolated rat hepatocytes.
- 70) Begum, K., Rajini, P.S., 2011 *Chem. Biol. Interact.* 193 (3), 240–245 Augmentation of hepatic and renal oxidative stress and disrupted glucose homeostasis by monocrotophos in streptozotocin-induced diabetic rats.
- 71) Shah, M.D., Iqbal, M., 2010 *Food Chem. Toxicol.* 48 (12), 3345–3353 Diazinon induced oxidative stress and renal dysfunction in rats.
- 72) Back, S.H., Kang, S.W., Han, J. et al, 2012 *Exp. Diabetes Res.* 2012, 618396. Endoplasmic reticulum stress in the beta-cell pathogenesis of type 2 diabetes.
- 73) Kim, M.K., Kim, H.S., Lee, I.K. et al, 2012 *Exp Diabetes Res.* 2012; 509437 Endoplasmic reticulum stress and insulin biosynthesis
- 74) Doyle, K.M., Kennedy, D., Gorman, A.M. et al, 2011 *J. Cell. Mol. Med.* 15 (10), 2025–2039 Unfolded proteins and endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disorders.
- 75) Nassif M.,Matus, S., Castillo K., Hetz C., 2010 *Antioxid. Redox Signal.* 13 (12), 1955–1989 Amyotrophic lateral sclerosis pathogenesis: a journey through the secretory pathway.
- 76) Chinta S.J., Ran, A., Poksa, K.S, et al, , 2008 *Neuromolecular Med.* 10 (4), 333–342 Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program in dopaminergic cells: effect of paraquat.
- 77) Chen Y.Y., Chen G., Fan Z., et al, 2008 *Biochem.Pharmacol.* 76 (1), 128–138 GSK3beta and endoplasmic reticulum stress mediate rotenone-induced death of SK-N-MC neuroblastoma cells.

- 78) Hossain M.M., Richardson J.R., 2011 *Toxicol. Sci.* 122 (2), 512–525. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of calpain and the ER stress pathway.
- 79) Chen Y.W., Chen K.L., Chen C.H. et al 2010 *Toxicol. Lett.* 199 (3), 333–340. Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC)/Cu complex induces lung epithelial cell apoptosis through mitochondria and ER-stress pathways
- 80) Paul S., 2008 *Bioessays* 30 (11–12), 1172–1184. Dysfunction of the ubiquitin–proteasome system in multiple disease conditions: therapeutic approaches.
- 81) Sun F., Anantharam V., Latchoumycandane C., et al, 2005 *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 315 (1), 69–79 Dieldrin induces ubiquitin–proteasome dysfunction in alpha-synuclein overexpressing dopaminergic neuronal cells and enhances susceptibility to apoptotic cell death.
- 82) Chou A.P., Maidment N., Klintonberg R., et al 2008. *J. Biol. Chem.* 283 (50), 34696–34703 Ziram causes dopaminergic cell damage by inhibiting E1 ligase of the proteasome.
- 83) Chou A.P., Li S., Fitzmaurice A.G. et al, 2010. *Neurotoxicology* 31 (4), 367–372. Mechanisms of rotenone induced proteasome inhibition.
- 84) Gonzalez, C.D., Lee, M.S., Marchetti, P., 2011 *Autophagy* 7 (1), 2–11 The emerging role of autophagy in the pathophysiology of diabetes mellitus.
- 85) Levine, B., Kroemer, G., 2008 *Cell* 132 (1), 27–42. Autophagy in the pathogenesis of disease.
- 86) Gonzalez-Polo, R.A., Niso-Santano, M., Ortiz-Ortiz, M.A et al 2007. *Toxicol. Sci.* 97 (2), 448–458 Inhibition of paraquat-induced autophagy accelerates the apoptotic cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cells
- 87) Niso-Santano, M., Bravo-San Pedro, J.M., Gomez-Sanchez, R., et al 2011. *Toxicol. Sci.* 119 (1), 156–168 ASK1 overexpression accelerates paraquat-induced autophagy via endoplasmic reticulum stress.
- 88) Zucchini-Pascal, N., de Sousa, G., Rahmani, R., 2009 *Toxicology* 256 (1–2), 32–41 Lindane and cell death: at the cross roads between apoptosis, necrosis and autophagy.
- 89) Zuskin, E.; Mustajbegovic, J.; Schachter, E.N. et al, 2008 *J. Occup. Environ. Med.* 50, 1299–1305 Respiratory function in pesticide workers.
- 90) Hashemi N.; Mirsadrae, M.; Shakeri M.T.; et al, 2006, *Can. Respir. J.* 13, 198–202 Prevalence of work-related respiratory symptoms in Iranian farmers.
- 91) Wilkins J.R., Engelhardt H.L.; Rublaitis S.M et al.; 1999 *J. Ind. Med.*, 35, 150–163. Prevalence of chronic respiratory symptoms among Ohio cash grain farmers.
- 92) Chakraborty S.; Mukherjee S.; Roychoudhury S.; 2009 *J. Occup. Health*, 51, 488–497 Chronic exposures to cholinesterase-inhibiting pesticides adversely affect respiratory health of agricultural workers in India.
- 93) Ohayo-Mitoko, G.J., Kromhout H.; Simwa J.M.; et al 2000 *Occup. Environ. Med.*, 57, 195–20 Self reported symptoms and inhibition of acetylcholinesterase activity among Kenyan agricultural workers.
- 94) Hoppin J.A.; Umbach D.M.; London S.J. et al 2006 *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1076, 343–354 Pesticides and adult respiratory outcomes in the agricultural health study.
- 95) Zuskin E.; Mustajbegovic J.; Schachter E. et al 2008 *J. Occup. Environ. Med.* 50, 1299–1305 Respiratory function in pesticide workers.
- 96) Mekonnen Y.; Agonafir T. 2004. *Ethiop. Med. J.*, 42, 261–266 Lung function and respiratory symptoms of pesticide sprayers in state farms of Ethiopia
- 97) Hernandez A.F.; Casado I.; Pena G. et al, 2008 *Inhal. Toxicol.*, 20, 839–849. A. Low level of exposure to pesticides leads to lung dysfunction in occupationally exposed subjects.
- 98) Peiris-John, R.J.; Ruberu, D.K.; Wickremasinghe, A.R. et al 2005 *Respir. Med.*, 99, 1319–1324 Low-level exposure to organophosphate pesticides leads to restrictive lung dysfunction.
- 99) Salameh, P.; Waked, M.; Bald, I.; Brochard P. 2005 *East. Mediterr. Health J.*, 11, 126–136. Spirometric changes following the use of pesticides.
- 100) Chakraborty S.; Mukherjee S.; Roychoudhury S.; et al 2009 *J. Occup. Health*, 51, 488–497 Chronic exposures to cholinesterase-inhibiting pesticides adversely affect respiratory health of agricultural workers in India.
- 101) Schenker M.B.; Stoecklin M.; LeK. et al 2004 *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.*, 170, 773–779. Pulmonary function and exercise-associated changes with chronic low-level paraquat exposure.
- 102) Peiris-John, R.J.; Ruberu D.K.; Wickremasinghe A.R. et al 2005 *Respir. Med.* 99, 1319–1324 Low-level exposure to organophosphate pesticides leads to restrictive lung dysfunction.
- 103) Rastogi, S.K.; Gupta, B.N.; Husain T. et al 1989 *Amer. J. Ind. Med.*, 16, 529–538 Study of respiratory impairment among pesticide sprayers in Mango plantations.
- 104) Hoppin, J.A.; Umbach, D.M.; London, S.J et al. 2006, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1076, 343–35 Pesticides and adult respiratory outcomes in the agricultural health study.
- 105) Levan T.D.; Koh W.P.; Lee H.P. et al 2006 *Amer. J. Epidemiol.*, 163, 1118–1128. Vapor, dust, and smoke exposure in relation to adult-onset asthma and chronic respiratory symptoms: The Singapore Chinese health study.
- 106) Faria N.M.; Facchini, L.A.; Fassa A.G. et al 2005, *Rev. Saude Publ.* 39, 973–981. Pesticides and respiratory symptoms among farmers.
- 107) Senthilselvan A.; McDuffie H.H.; Dosman J.A 1992, *Amer. Rev. Respir. Dis.* 146, 884–887 Association of asthma with use of pesticides. Results of a cross-sectional survey of farmers.

- 108) Hoppin J.A.; Umbach D.M.; London S.J. 2009 *Eur. Respir. J.*, 34, 1296–1303 Pesticide use and adult-onset asthma among male farmers in the Agricultural Health Study.
- 109) Hoppin J.A.; Umbach D.M.; London S.J. et al 2002 *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.*, 165, 683–689 Chemical predictors of wheeze among farmer pesticide applicators in the agricultural health study.
- 110) Hoppin J.A.; Umbach D.M.; London S.J. et al 2008 *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.*, 177, 11–18. Pesticides and atopic and non-atopic asthma among farm women in the agricultural health study.
- 111) Baldi, I.; Robert, C.; Piantoni, F et al, 2013 *Int. J. Hyg. Environ. Health* Agricultural exposure and asthma risk in the AGRICAN French cohort.,
- 112) Crinnion, W.J. 2012 *Altern. Med. Rev.*, 17, 6–18. Do environmental toxicants contribute to allergy and asthma?.
- 113) Beard J.; Sladden T.; Morgan G. 2003 *Environ. Health Perspect.*, 111, 724–730.; Health impacts of pesticide exposure in a cohort of outdoor workers.
- 114) Chakraborty S.; Mukherjee S.; Roychoudhury S.; et al 2009 *J. Occup. Health* 51 488–497 Chronic exposures to cholinesterase-inhibiting pesticides adversely affect respiratory health of agricultural workers in India.
- 115) Barczyk A.; Sozanska E.; Pierzchala W, 2006 *Wiad. Lek.* 59, 596–600. The influence of occupational exposure to pesticides on the frequency of chronic obstructive pulmonary diseases.
- 116) Salameh P.R.; Waked M.; Baldi. et al 2006 *Eur. J. Epidemiol.* 21, 681–688, Chronic bronchitis and pesticide exposure: A case-control study in Lebanon.
- 117) Hoppin J.A.; Valcin M.; Henneberger P.K. 2007 *Amer. J. Ind. Med.*, 50, 969–979. Pesticide use and chronic bronchitis among farmers in the agricultural health study.
- 118) Valcin M.; Henneberger P.K.; Kullman G.J. et al 2007, *J. Occup. Environ. Med.* 49, 574–583. Chronic bronchitis among non smoking farm women in the agricultural health study.
- 119) Tual S.; Clin, B.; Leveque-Morlais N. et al 2013 *Ann. Epidemiol.*, 23, 539–545. Agricultural exposures and chronic bronchitis: Findings from the AGRICAN (AGRIculture and CANcer) cohort.
- 120) Rosenstock L, Keifer M, Daniell WE 1991, *Lancet*. Jul 27;338(8761):223-7 Chronic central nervous system effects of acute organophosphate pesticide intoxication. The Pesticide Health Effects Study Group.
- 121) Steenland K, Jenkins B, Ames RG, et al 1994 *Am J Public Health* May;84(5):731-6, Chronic neurological sequelae to organophosphate pesticide poisoning
- 122) Dassanayake T, Weerasinghe V, Dangahadeniya U et al. 2008 *Clin Neurophysiol*. Jan;119(1):144-50 Long-term event-related potential changes following organophosphorus insecticide poisoning.
- 123) Modgil S, Lahiri DK, Sharma VL, et al 2014 *Transl Neurodegener.* Apr 29;3:9 doi: 10.1186/2047-9158-3-9 Role of early life exposure and environment on neurodegeneration: implications on brain disorders.
- 124) Loui, J.; Casarett J.D.; Curtis D.; 2008 *Klaassen Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 7th ed.; McGraw-Hill Professional: New York, NY, USA,
- 125) Keifer MC, Firestone, J. 2007 *J. Agromed.*, 12, 17–25 Neurotoxicity of pesticides.
- 126) Terry AV Jr. 2012 *Parmacol Ther* Jun;134(3):355-65 Functional consequences of repeated organophosphate exposure: potential non-cholinergic mechanisms.
- 127) Androustopoulos VP, Hernandez AF, Liesivuori J. et al, 2013 *Toxicology* May 10; 307:89-94. A mechanistic overview of health associated effects of low levels of organochlorine and organophosphorous pesticides.
- 128) Levy G, Tang MX, Louis ED et al 2002 *Neurology.*; 59(11): 1708–13 The association of incident dementia with mortality in PD
- 129) Richardson JR, Shalat, S.L., Buckley, B., Winnik, B., et al. 2009 *Arch. Neurol.* 66 (7), 870–875. Elevated serum pesticide levels and risk of Parkinson disease
- 130) Hatcher JM, Pennell KD, Miller GW. 2008 *Trends Pharmacol Sci.*; 29(6):322–9. Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective.
- 131) Dick FD. 2006 *Br Med Bull.*; 79–80:219–31 Parkinson's disease and pesticide exposures.
- 132) Semchuk KM, Love EJ, Lee RG. 1992 *Neurology.*; 42(7):1328–35 Parkinson's disease and exposure to agricultural work and pesticide chemicals
- 133) Kamel F, Tanner C, Umbach D. et al. 2007 *Am J Epidemiol.*; 165(4):364–74 Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study.
- 134) Costa, L.G., Giordano, G., Guizzetti, M., et al. 2008 *Front. Biosci.* 13, 1240–1249.. Neurotoxicity of pesticides: a brief review.
- 135) Van der Mark, M., Brouwer, M., Kromhout, H. et al, 2012 *Environ. Health Perspect.* 120 (3), 340–347 Is pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results.
- 136) Allen MT, Levy LS. 2013 *Crit Rev Toxicol.* Jul;43(6):515-34 Parkinson's disease and pesticide exposure- a new assessment.
- 137) Baltazar MT, Dinis-Oliveira RJ, de Lourdes Bastos M. 2014 *Toxicol Lett.* Oct 15;230(2):85-103 Pesticides exposure as etiologic factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases-A mechanistic approach.
- 138) Cannon JR<sup>1</sup>, Tapias V, Na HM, et al 2009 *Neurobiol Dis.*; 34(2):279–90. A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease.

- 139) Laurie H. Sanders and J. Timothy Greenamyre 2013 *Free Radic Biol Med.* September ; 62: 111–120 Oxidative damage to macromolecules in human Parkinson's disease and the rotenone model
- 140) Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K et al 2007 *Alzheimers Dement.* 3(3):186–191 Forecasting the global burden of Alzheimer's disease.
- 141) Santibáñez M, Bolumar F, García AM 2007 *Occup Environ Med.*; 64(11):723– 732 Occupational risk factors in Alzheimer's disease: a review assessing the quality of published epidemiological studies.
- 142) Hayden KM, Norton MC, Darcey D, et al 2010 *Neurology.*; 74(19):1524–1530 Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County Study.
- 143) Singh N, Chhillar N, Banerjee B, et al, 2013 *Hum Exp Toxicol.*; 32(1):24–30 Organochlorine pesticide levels and risk of Alzheimer's disease in north Indian population.
- 144) Jones, N., 2010 *Nat. Rev. Neurol.* 6 (7), 353. Alzheimer disease: risk of dementia and Alzheimer disease increases with occupational pesticide exposure
- 145) Hayden KM, Norton MC, Darcey D, et al. 2010 *Neurology.* 74(19):1524–1530 Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County Study.
- 146) Parrón T, Requena M, Hernández AF, et al 2011 *Toxicol Appl Pharmacol.* Nov 1;256(3):379-85. Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases.
- 147) Richardson JR, Roy A, Shalat SL, von Stein RT et al, 2014 *JAMA Neurol.* March ; 71(3): 284–290 Elevated Serum Pesticide Levels and Risk for Alzheimer Disease
- 148) Morahan JM, Pamphlett R, 2006 *Neuroepidemiology*;27(3):130-5 .Amyotrophic lateral sclerosis and exposure to environmental toxins: an Australian case-control study.
- 149) Sutedja NA, Veldink JH, Fischer K, 2009 *Amyotroph Lateral Scler.* Oct-Dec; 10 (5-6):302-9 Exposure to chemicals and metals and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review.
- 150) McGuire V, Longstreth WT Jr, Nelson LM 1997, *Am J Epidemiol.* Jun 15;145(12):1076-88 Occupational exposures and amyotrophic lateral sclerosis. A population-based case-control study.
- 151) Kamel F, Umbach DM, Bedlack RS ,et al 2012 *Neurotoxicology* 33 (3), 457–462 Pesticide exposure and amyotrophic lateral sclerosis.
- 152) Malek AM, Barchowsky A, Bowser R. 2012, *Environ Res.* Aug;117:112-9 Pesticide exposure as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis of epidemiological studies: pesticide exposure as a risk factor for ALS.
- 153) Trojsi F, Monsurrò MR, Tedeschi G. 2013 *Int J Mol Sci.* Jul 24;14(8):15286-311 Exposure to environmental toxicants and pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis: state of the art and research perspectives.
- 154) Lee DH, Porta M, Jacobs DR Jr, Vandenberg LN. 2014 *Endocr Rev.* Apr;35(4):557-601 Chlorinated persistent organic pollutants, obesity, and type 2 diabetes
- 155) Lasram MM, Dhoubib IB, Annabi A et al. 2014 *Toxicology.* Aug 1; 322:1-13 A review on the molecular mechanisms involved in insulin resistance induced by organophosphorus pesticides.
- 156) Everett CJ, Matheson EM, 2010 *Environ Int.* May;36(4):398-401 Biomarkers of pesticide exposure and diabetes in the 1999-2004 national health and nutrition examination survey
- 157) Montgomery MP, Kamel F, Saldana TM, et al. . 2008 *Am J Epidemiol.* May 15;167(10) Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural Health Study, 1993-2003.
- 158) Azandjeme CS, Bouchard M, Fayomi B, et al, 2013 *Curr Diabetes Rev.* Nov; 9(6):437-49. Growing burden of diabetes in sub-saharan Africa: contribution of pesticides ?
- 159) Thayer KA, Heindel JJ, Bucher JR, et al. 2012 *Environ Health Perspect* Jun;120(6):779-89 Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a National Toxicology Program workshop review.
- 160) Starling AP, Umbach DM, Kamel F., et al, 2014 *Occup Environ Med.* Sep;71(9): 629-35 Pesticide use and incident diabetes among wives of farmers in the Agricultural Health Study.
- 161) Morton W.E., Crawford E.D., Maricle R.A., 1975 *J. Occup. Med.* 17 (3), 182–185 Hypertension in Oregon pesticide-formulating workers.
- 162) Fokina K.V., Bezuglyi V.P., 1978 *Vrach. Delo* (4), 19–23. Role of chlordane and organophosphate pesticide complexes in the etiology of cerebral atherosclerosis.
- 163) Antov G., Aianova A., 1980 *Probl. Khig.* 5, 58–67. Effect of the pesticide, fundazol, on the myocardium of rats with experimental atherosclerosis.
- 164) Yi SW, Ohrr H, Hong JS, et al, 2013 *J Prev Med Public Health.* Sep;46(5):213-25. Agent Orange exposure and prevalence of self-reported diseases in Korean Vietnam veterans.
- 165) Mills KT, Blair A, Freeman LE, et al. . 2009 *Am J Epidemiol.* Oct 1;170(7):892-900 Pesticides and myocardial infarction incidence and mortality among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study.
- 166) Rinsky JL, Hoppin JA, Blair A, et al 2013 *Toxicol Environ Health*; 76(13):798-814. Agricultural exposures and stroke mortality in the Agricultural Health Study.
- 167) Aminov Z, Haase RF, Pavuk M, et al, *Environ Health.* 2013 Dec 11;12:108 Analysis of the effects of exposure to polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides on serum lipid levels in residents of Anniston, Alabama

- 168) Penell J, Lind L, Salihovic S, 2014, *Environ Res* Aug 27;134 C:190-197. Persistent organic pollutants are related to the change in circulating lipid levels during a 5 year follow-up.
- 169) La Merrill M, Cirillo PM, Terry MB, et al, *Environ Health Perspect*. 2013 May;121(5):594-9 Prenatal exposure to the pesticide DDT and hypertension diagnosed in women before age 50: a longitudinal birth cohort study.
- 170) Saldana T M., Basso O, Donna D. et al, 2009 *Environ Health Perspect* 117:1393-96 Pesticide Exposure and Hypertensive Disorders During Pregnancy
- 171) Parks CG, Walitt BT, Pettinger M, 2011 *Arthritis Care Res (Hoboken)*. Feb; 63(2):184-94 .Insecticide use and risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in the Women's Health Initiative Observational Study .
- 172) Parks CG, De Roos A J, 2014 *Lupus*. May;23(6):527-36 Pesticides, chemical and industrial exposures in relation to systemic lupus erythematosus..
- 173) Tahmaz N, Soutar A, Cherrie JW. 2003 *Ann Occup Hyg*. Jun;47(4):261-7 Chronic fatigue and organophosphate pesticides in sheep farming: a retrospective study amongst people reporting to a UK pharmacovigilance scheme.
- 174) Fernández-Solà J, Lluís Padierna M, Nogué Xarau S, et al 2005, *Med Clin (Barc)*. Apr 2;124(12):451-3. Chronic fatigue syndrome and multiple chemical hypersensitivity after insecticide exposure.
- 175) Khan F, Kennedy G, Spence VA., et al, 2004 *Clin Sci (Lond)*. Feb;106(2):183-9 Peripheral cholinergic function in humans with chronic fatigue syndrome, Gulf War syndrome and with illness following organophosphate exposure.
- 176) Wanigasuriya KP, Peiris-John RJ, Wickremasinghe R, et al 2007, *Trans R Soc Trop Med Hyg* Oct;101(10):1013-7 Chronic renal failure in North Central Province of Sri Lanka: an environmentally induced disease.
- 177) Peiris-John RJ, Wanigasuriya JK, Wickremasinghe AR, et al, 2006 *Ceylon Med J*. Mar;51(1):42-3. Exposure to acetylcholinesterase-inhibiting pesticides and chronic renal failure.
- 178) Siddharth, M., Datta, S.K., Bansal, S. ,et al 2012 *J. Biochem. Mol. Toxicol*. 26 (6), 241–247 Study on organochlorine pesticide levels in chronic kidney disease patients: association with estimated glomerular filtration rate and oxidative stress.
- 179) Figa-Talamanca, I., Traina, M.E., Urbani, E., 2001 *Occup. Med. (Lond.)* 51 (3), 174–188 Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers.
- 180) Cocco, P., 2002 *Cad. Saude Publica* 18 (2), 379–402 On the rumors about the silent spring. Review of the scientific evidencelinking occupational and environmental pesticide exposure to endocrine disruption health effects.
- 181) Tiemann, U., 2008 *Reprod. Toxicol*. 25 (3), 316–326 In vivo and in vitro effects of the organochlorine pesticides DDT, TCPM, methoxychlor, and lindane on the female reproductive tract of mammals: a review.
- 182) Mehrpour O, Karrari P, Zamani N, et al 2014, *Toxicol Lett*. Oct 15;230(2):146-56. Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: A review.
- 183) Cavieres MF<sup>1</sup>, Jaeger J, Porter W, 2002 *Environ Health Perspect*. Nov; 110 (11):1081-5 Developmental toxicity of a commercial herbicide mixture in mice: Effects on embryo implantation and litter size.
- 184) Institute of Medicine. *Veterans and Agent Orange: Update 2004*. Institute of Medicine of the National Academies Press, 2005.
- 185) Ngo AD, Taylor R, Roberts CL, et al, 2006 *Int J Epidemiol*. Oct;35(5):1220-30 Association between Agent Orange and birth defects: systematic review and meta-analysis.
- 186) Rocheleau CM, Romitti PA, Dennis LK, 2009 *J Pediatr Urol*. Feb;5(1):17-24. Pesticides and hypospadias: a meta-analysis.
- 187) Cordier S, Lehébel A, Amar E et al, 2010, *Occup Environ Med*. Jul;67(7):493- 99. Maternal residence near municipal waste incinerators and the risk of urinary tract birth defects.
- 188) Carmichael SL<sup>1</sup>, Yang W, Roberts EM, et al 2013 *Pediatrics*. Nov;132(5) 1216-26. Hypospadias and residential proximity to pesticide applications.
- 189) Makelarski JA, Romitti PA, Rocheleau CM et al, 2014 *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. Aug 15. doi: 10.1002/bdra.2329 Maternal periconceptional occupational pesticide exposure and neural tube defects
- 190) Kielb C, Lin S, Herdt-Losavio M, et al, 2014 *Int J Hyg Environ Health* Mar; 217 (2-3):248-54 Maternal periconceptional occupational exposure to pesticides and selected musculoskeletal birth defects
- 191) van Gelder MM, van Rooij IA, Miller RK, et al, 2010. *Hum Reprod Update* Jul-Aug;16(4):378-94 Teratogenic mechanisms of medical drugs.
- 192) Brucker-Davis F. 1998 8(9):827–56 Thyroid;. Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function.
- 193) Whitney S. G, Dale P. S, Fang Y et al. 2010 *Am J Epidemiol* 2010;171:455–464 Pesticide Use and Thyroid Disease Among Women in the Agricultural Health Study
- 194) Goldner WS<sup>1</sup>, Sandler DP, Yu F et al. 2013 *J Occup Environ Med*. 55(10):1171-8. Hypothyroidism and pesticide use among male private pesticide applicators in the agricultural health study

- 195) Lacasaña M<sup>1</sup>, López-Flores I, Rodríguez-Barranco M 2010 *Toxicol Appl Pharmacol.* 15;243(1):19-26. Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers.
- 196) Lacasaña M<sup>1</sup>, López-Flores I, Rodríguez-Barranco M et al 2010 *Toxicol Appl Pharmacol.* 15;249(1):16-24 Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function.
- 197) Khan DA, Ahad K, Ansari WM et al 2013. *Asia Pac J Public Health.* Mar;25(2):181-91 Pesticide exposure and endocrine dysfunction in the cotton crop agricultural workers of southern Punjab, Pakistan.
- 198) Freire C, Koifman RJ, Sarcinelli PN et al 2013 *Environ Res.* 127:7-15 Long-term exposure to organochlorine pesticides and thyroid status in adults in a heavily contaminated area in Brazil
- 199) Jain RB. 2014 *Sci Total Environ.* 466-467:706-15. Association between thyroid function and selected organochlorine pesticides: data from NHANES 2001-2002.
- 200) Freire C, Koifman RJ, Sarcinelli P et al. 2012 *Environ Res* 117:68-74 Long term exposure to organochlorine pesticides and thyroid function in children from Cidade dos Meninos, Rio de Janeiro, Brazil
- 201) Freire C, Lopez-Espinosa MJ, Fernández M, et al. 2011 *Sci Total Environ.* 15;409(18):3281-7. Prenatal exposure to organochlorine pesticides and TSH status in newborns from Southern Spain
- 202) Li C, Cheng Y, Tang Q et al. 2014 *Environ Res.* Feb;129:47-51 The association between prenatal exposure to organochlorine pesticides and thyroid hormone levels in newborns in Yancheng, China
- 203) EEA Report Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation No 1/2013





Roberto Magarotto

### **Premessa**

Ogni giorno in Italia si scoprono 1.000 nuovi casi di cancro.

Si stima che nel nostro Paese vi siano nel corso dell'anno circa 366.000 nuove diagnosi di tumore (esclusi i tumori della pelle, per i quali è prevista una classificazione a parte a causa della difficoltà di distinguere appieno le forme più o meno aggressive), circa 200.000 (55%) fra gli uomini e circa 166.000 (45%) fra le donne.

Dall'edizione 2014 del World Cancer Report (1), il documento che fornisce un quadro completo sulla malattia a livello mondiale, emerge che: il cancro, come singolo fattore, rappresenta la principale causa di mortalità nel mondo, e che a livello globale l'incidenza negli ultimi 4 anni è cresciuta dell'11 per cento, con oltre 14 milioni di nuovi casi nel 2012 e otto milioni di morti per tumore.

Se è vero che per alcuni tumori le percentuali di sopravvivenza sono aumentate nettamente dopo l'avvento di terapie più mirate contro le cellule tumorali (in particolare per i tumori della mammella e dell'intestino) rimane fondamentale una seria e programmata prevenzione dei fattori di rischio: ben noto è l'impatto degli stili di vita fumo in primis) della dieta e dei fattori genetici di familiarità sull'insorgenza dei tumori, non è ancora ampiamente condivisa la convinzione che molti inquinanti ambientali aumentano negli uomini il rischio di sviluppare un tumore.

Spetta prima di ogni altro ai medici impegnarsi nella prevenzione di questa malattia spesso mortale facendo corretta informazione sulla pericolosità dei prodotti usati nell'industria e nell'agricoltura, tallonando le Istituzioni perchè verificchino costantemente il rispetto delle norme che regolamentano l'uso delle sostanze chimiche nei vari settori dell'attività umana, impegnandosi nella ricerca dedicata all'argomento; come recita lo slogan dell'ISDE "tutti i cittadini sono responsabili verso l'ambiente, i medici lo sono due volte".

Occorre ogni qualvolta si opera una scelta nel campo dello sviluppo economico-tecnologico cosiddetto "sostenibile" pensare anche alle nuove generazioni che vivranno tutta la loro vita immersi in questa "cappa" di inquinanti di derivazione chimica; in un recente articolo uscito su Science ad agosto 2013 dedicato alla questione scottante dell'effetto dell'esposizione dei bambini ai pesticidi intitolato "Growing up with pesticides" (2) un ricercatore afferma "i pesticidi sono disegnati per essere neurotossici; perchè sorprendersi che causano neurotossicità?"; così per i tumori: sono documentate in laboratorio multiple interferenze dei pesticidi con il materiale genetico cellulare: come stupirsi se poi risultano a rischio cancerogeno?

### **Un po' di storia**

I pesticidi sono stati usati in limitate proporzioni sin dai tempi antichi per combattere le infestazioni di piante, frutti, prodotti di consumo alimentare.

I primi insetticidi riportati in testi scritti furono prodotti a base di zolfo contro insetti e termiti circa 4500 anni fa; ancora oggi rame e zolfo sono prodotti permessi anche nel disciplinare della agricoltura biologica.

I cinesi nel 15° secolo cominciarono ad utilizzare mercurio e arsenico per controllare gli insetti nei giardini (e la cosa ci risulta più preoccupante).

Nel 17° secolo guadagnò popolarità l'uso del tabacco come insetticida da contatto.

Nel 18° e all'inizio del 19° secolo rimase il piretro—derivato dai fiori secchi del *Chrysanthemum cinerariaefolium* - a farla da padrone.

Ma è dall'avvento delle industrie chimiche nel Novecento che vengono immessi sul mercato migliaia di prodotti chimici ad azione antiparassitaria, insetticida, antifungina, disinfestante: sostanze evidentemente tossiche, dannose per l'ambiente, oggi documentate come cancerogene. La facilità di produzione ne ha agevolato la diffusione e spesso l'abuso ingiustificato, nemmeno necessario in tali smisurate quantità per ottenere lo scopo previsto, certamente giusto, di salvare la produzione agricola: è diventato prioritario aumentare la produzione e fornire al consumatore – dalle cui scelte dipende in fondo il futuro dell'agricoltura – prodotti alimentari sempre più "perfetti" e "invitanti"

Ma avere a disposizione pesticidi in grande varietà e a prezzo limitato significa automaticamente che li dobbiamo usare senza alcun criterio? Ed ora che sono documentati come cancerogeni umani ne stiamo prendendo atto bandendone l'utilizzo? Lo vedremo nelle prossime pagine.

### **Il grande studio americano AHS**

Quando si espongono i dati relativi al rischio cancerogeno di specifici pesticidi vengono sollevate di solito fin da subito due obiezioni:

a) un rilievo che nasce dal buon senso popolare: "ma io i pesticidi li uso da anni e anni e sono sano come un pesce!"; non stanchiamoci di ripetere che parliamo di rischio cancerogeno - come per il fumo! - e il rapporto esposizione - tumore non è fortunatamente 1 a 1; rimane il fatto che esporsi ad un rischio aumentato in presenza di alternative non tossiche ed esporre anche i propri figli e le proprie mogli inquinando e inaridendo la terra coltivabile rimane una scelta non "sensata"

b) una seconda obiezione che proviene dai cosiddetti esperti è considerata più scientifica: "se un tumore originato in un dato organo ha colpito un agricoltore che usava i tali pesticidi, come si può essere sicuri che siano stati essi stessi la causa dell'insorgenza della malignità?"

Per rispondere a questo quesito analizziamo come è stato condotto e quali risultati ha prodotto l'AGRICULTURAL HEALTH STUDY americano (3).

E' uno studio condotto tra il 1993 e il 2007 ,in due Stati americani con estese coltivazioni di cereali trattate con pesticidi - Iowa e North Carolina - coinvolgendo circa 50.000 agricoltori, 2000 addetti ai trattamenti, 32.000 mogli e bambini, 5000 addetti alla vendita dei pesticidi (89.000 persone!); in alcuni studi sono stati monitorati anche i bambini, i figli degli agricoltori.

Dal 1993 al 1997 sono stati somministrati a tappeto questionari relativi al tipo di pesticidi, allo stoccaggio, alle protezioni individuali rispettate o no, alle frequenze di irrorazione ma anche al consumo di fumo, stili di vita, abitudini alimentari, precedenti familiari di tumore.

Dal 1999 al 2003 si è passati alla determinazione della incidenza del cancro nei soggetti coinvolti nello studio e della mortalità.

Dal 2003 al 2007 lo studio è stato prolungato con follow-up ulteriore.

Ebbene, depurati i dati emersi dallo studio da tutti i co-fattori in causa, per almeno 12 pesticidi si è dimostrata una significativa correlazione tra esposizione e incidenza tumorale. Li nominiamo tutti e vediamo se sono utilizzati ancora in Italia:

1. alachlor: erbicida, fuori commercio;
2. aldicarb: insetticida per cereali, fuori commercio;
3. carbaryl: anti-cocciniglie olivo-frutteti, revocato nel 2007;
4. chlorpyrifos: insetticida, nocivo, nel 2012 è stato prorogato per altri 5 anni;
5. diazinon: insetticida, fuori commercio;
6. dicamba: diserbante, non classificato usato contro il tarassaco, anche su campi sportivi e prati erbosi;
7. dipropylthiocarbammato: non usato da noi;
8. imazethapyr: usato per i cereali, non più usato;
9. metolachlor: diserbante, usato per il mais;
10. pendimethalin: diserbante, ancora in commercio;
11. permethrin: insetticida piretroide, nocivo, usato anche nelle miscele per uso domestico;
12. trifluralin: diserbante, revocato.

Risulta confortante che molti di questi prodotti non siano più in commercio, sostituiti da nuove molecole di cui però la supposta minore nocività risulta ancora tutta da dimostrare (di sicuro la lista dei pesticidi è stata molto sfoltita negli ultimi anni); d'altra parte la presenza di questi inquinanti ambientali è destinata a perdurare ancora a lungo.

Ciò che invece più indigna è la dispersione su suolo pubblico a tutt'oggi di sostanze nocive e dal profilo di rischio oncologico elevato: il risultato è un danno per la salute dei cittadini e un deturpamento del paesaggio in cui viviamo (talora il diserbo chimico porta da una desertificazione di ampie zone di territorio).

### **Un altro equivoco da sgombrare**

Vi è una ulteriore contestazione sul valore di questi dati scientifici che viene dagli "addetti ai lavori" e la andiamo ora ad affrontare.

Dalla conclusione dello studio americano AHS sono stati pubblicati centinaia di lavori scientifici che analizzano le incidenze specifiche di alcuni tumori e la correlazione con singoli pesticidi; ne elenchiamo qui in ordine sparso:

- a) pendimethalin e tumore del pancreas (4)
- b) mancozeb e carbaryl e melanoma (5)
- c) chlorpyrifos e cancro del retto, aldicarb e tumore del colon (6)
- d) methyl bromide e tumore della prostata (7)
- e) alachlor e leucemie/linfomi (8)
- f) glyphosate e mieloma (da confermare con follow-up più lungo) (9)
- g) diazinon e leucemie (10)

Alavanja, ricercatore del Bethesda Institute e coll. (11) nel 2013 hanno presentato un accurato stato dell'arte relativo alla questione pesticidi-cancro a titolo "Increased cancer burden among pesticide applicators": l'articolo contiene delle tabelle inquietanti. Ad esempio nella tabella dei primi dieci pesticidi utilizzati nel "garden market" troviamo: glyphosate carbaryl, pendimethalin, dicamba, trifluralin! spesso mescolati assieme in miscele certamente letali per gli insetti e i parassiti ma estremamente nocive anche per l'uomo.

Nei primi 25 prodotti usati nel settore agricolo ancora glifosate, atrazina (ancora! bandita in Europa Occidentale da più di 20 anni) methylbromide, clorpyrifos, mancozeb, aldicarb. E allora vien da chiedersi: e tutto l'impegno scientifico profuso nell'AHS?

A stretto giro di posta sulla stessa rivista - Cancer journal of Clinicians - venne pubblicato una lettera a firma di rappresentanti della Dow Chemical Company e della Industry Task force fortemente polemica sull'attendibilità dei dati scientifici presentati e che introduce l'altra obiezione che non possiamo non affrontare a partire dall'update dell'AHS (12) pubblicato nel 2010: la popolazione costituita dagli agricoltori dell'Iowa e del North Carolina – ma vale anche per gli altri stati americani – hanno un tasso di incidenza globale di cancro inferiore alle altre categorie professionali (dal 7 al 18%). Questo dato offre ai difensori dei pesticidi un gancio per andare all'attacco degli "ambientalisti": "dove sta allora il problema dei pesticidi?"

Occorre chiarire - come hanno fatto gli autori della revisione critica in una successiva controreplica - che vi è in questa popolazione un evidente riduzione dei tumori fumo -correlati (polmone) e dieta/attività fisica - correlati (tumori dell'intestino) rispetto ai lavoratori nei servizi o nelle fabbriche; proprio per questo spiccano ancora di più i picchi relativi ai tumori della prostata e tumori linfoemopoietici negli agricoltori evidentemente legati all'esposizione professionale ai pesticidi (12).

### **Il caso Martinica**

Ripercorriamo brevemente assieme la soluzione del supposto mistero del tumore della prostata nell'isola caraibica di lingua francese Martinica, la cui incidenza è esplosa letteralmente a partire dagli anni 90. L'isola è vocata alla coltivazione delle banane ed andando a verificare quali prodotti chimici venissero usati si è scoperto un uso smodato di chlordecone, un pesticida bandito da decenni dai paesi occidentali e catalogato come CMR (carcinogeno, mutageno, tossico per la riproduzione!).

Non è stato poi difficile per i ricercatori dimostrare una assoluta correlazione tra esposizione al pesticida e incidenza di tumore prostatico (13).

### **Analizzando i dati del cancro in Veneto**

Vi presento ora una mia personale ricerca epidemiologica a partire dai dati AIRTUM - Associazione Italiana Registri Tumori - per il Nord Italia e del Registro Tumori del Veneto relativamente ai dati di incidenza tumorale nelle varie provincie del Veneto.

Il cancro in Veneto - 5 milioni di abitanti, 20% sopra i 65 anni di età - è la seconda causa di morte - 14.000 morti per tumore nel 2008; la mortalità per tumore nei maschi in particolare è tra le più alte in Italia; nel 2012 i più frequenti tumori sono stati del colon-retto, prostata e mammella (4677, 3760, 3729 nuovi casi rispettivamente)

- a) provincia di Verona: nei maschi una maggiore incidenza rispetto alla media del Nord Italia di tumori della prostata (114 vs 110) e dell'encefalo (10 vs 8.6) – per il pancreas il dato è sovrapponibile; nelle donne una percentuale nettamente più alta di tumori dell'utero (25 vs 18),

- b) provincia di Treviso: nei maschi una maggiore incidenza rispetto al Nord Italia di tumore del pancreas (17.2 vs 13.8), della prostata (113 vs 110) e dell'encefalo (10.6 vs 8.6) e nelle donne si conferma anche in quest'area una percentuale più alta di tumori dell'utero (24.6 vs 18),

- ma ecco la sorpresa maggiore mettendo in fila l'incidenza standardizzata del tumore della prostata per 100.000 abitanti per ogni provincia:

- Verona 114,

- Vicenza 100, Belluno 105,

- Treviso 113,

- Venezia 105,

- Padova 102,

- Rovigo 87,

- Verona e Treviso - le provincie a maggior consumo di pesticidi in Veneto - non solo superano la media del Nord Italia (110) ma sono ampiamente sopra le soglie della altre provincie venete.

Chiariamo subito: per dimostrare che degli scostamenti significativi dalle medie relativamente all'incidenza di alcuni tumori sono imputabili all'esposizione e all'inquinamento da pesticidi occorrerebbe rifare in Veneto lo studio americano (e con quali finanziamenti?).

Ma è giusto ascoltare i segnali d'allarme quando sono concordi e impegnarsi a praticare il principio di precauzione: mettendo assieme i dati americani, l'esperienza limite della Martinica, le acquisizioni genetiche recenti di come l'uso dei pesticidi modifica, aumentandone l'incidenza, l'associazione tra varianti genetiche del cromosoma 8 (8q24) e il tumore prostatico (14) non possiamo più far finta di nulla.

### **Gli Studi europei confermano**

Anche in Europa sono stati condotti negli ultimi anni studi epidemiologici e ricerche mirate per tentare di illuminare la questione controversa per alcuni, assai limpida per molti della correlazione pesticidi e cancro.

Partiamo dalla Francia.

Nel 2009 è stato pubblicato da L.Orsi ed altri (15) un importante studio che ha analizzato 491 casi da ricoveri ospedalieri per diagnosi di linfomi, mielomi e sindromi linfoproliferative in varie regioni a vocazione vitivinicola (tra cui Bordeaux): si dimostra un impatto dell'esposizione professionale ai pesticidi/diserbanti (atrazina, alachlor, glyphosate tra gli altri) sull'incidenza dell'Hodgkin e del mieloma multiplo e non del linfoma non Hodgkin. Risultato da approfondire.

E' merito ancora di ricercatori francesi - Agopian et. Al - (16) aver messo in evidenza come si trovi nei campioni di sangue di agricoltori esposti a pesticidi una alta percentuale di traslocazione t14-18 nei linfociti B, l'evento iniziale della cascata che porta all'espansione clonale e poi al linfoma follicolare.

Ancora dall'area di Bordeaux viene una valutazione su pesticidi e tumore del cervello (17): la correlazione con esposizione ai pesticidi in 221 casi analizzati è positiva per i gliomi, negativa per i meningiomi.

Gli studi italiani non sono molti ma tutti significativi.

Laura Settimi (Istituto Superiore di Sanità) ed altri ricercatori (18) hanno analizzato 124 nuovi casi di tumore prostatico nelle aree di Torino, Siena e Pisa trovando una significativa correlazione con l'esposizione a insetticidi organo clorurati.

Lucia Miligi di Firenze e altri ricercatori italiani (19) hanno condotto uno studio multicentrico caso-controllo su linfomi non Hodgkin e leucemie ed esposizione in agricoltura: ancora una volta si conferma un aumentato rischio e in questo caso per entrambe le famiglie di tumori emolinfopietici.

Infine Salerno et. al su Annali di Igiene nel 2014 descrivono uno studio ecologico relativamente al rischio di cancro nella provincia di Vercelli (20); l'esposizione ovviamente è ai pesticidi nel trattamento delle coltivazioni di riso : il rischio è maggiore per molti tumori , compresi quelli del pancreas e del rene.

### **Il dramma dei familiari**

Non solo i diretti applicatori dei pesticidi rischiano quotidianamente la loro salute; anche le mogli e i bambini sono soggetti a maggior rischio di sviluppare un tumore in quanto purtroppo tracce più o meno consistenti di pesticidi vengono "portate in casa" e i familiari condividono comunque gli spazi dei terreni esposti.

Ritornando all'AHS è stato dimostrato (21) che nei bambini delle fattorie vi è un aumento di sviluppare sia i tipici tumori infantili (tumori cerebrali, neuroblastomi, tumori dei tessuti germinali) che i linfomi/leucemie.

Le spose dei "farmers" sono invece maggiormente soggette all'insorgenza di linfomi della zona marginale: non ha trovato conferma invece una maggior incidenza di neoplasia mammaria come da alcuni ipotizzato (12).

### **Il dilemma dei residenti nelle zone ad alta esposizione**

Pochissimi ricercatori si sono avventurati nel terreno minato della ardua dimostrazione statistica di una correlazione esposizione/tumori per i residenti nelle vicinanze delle zone ad agricoltura intensiva - non va del resto dimenticato che tracce di pesticidi si trovano ormai nel 55% delle acque superficiali italiane - rapporto ISPRA 2013 - per cui i contatti con queste sostanze possono essere ubiquitari.

Uno studio statunitense che si vuole qui citare per la serietà dell'impostazione è quello pubblicato nel 2008 sulla base dei dati epidemiologici dei tumori infantili (22) nelle contee americane ad elevata concentrazione di agricoltura con uso intensivo di pesticidi; in quelle aree purtroppo tutti i tipi di tumore infantile sono più elevati che nelle altre aree. Sono ancora una volta i bambini a pagare il prezzo più alto della nostra struttura produttiva agricola impostata sul modello chimico- industriale.

### **Per concludere: l'esempio virtuoso della Svezia**

Un'altra obiezione che ci si sente spesso fare, la più insidiosa, è questa: "ma a che serve eliminare i pesticidi in agricoltura quando siamo immersi nella chimica industriale, respiriamo l'inquinamento atmosferico, mangiamo ogni giorno cibi con sostanze chimiche nocive?"

Torniamo allora in Svezia negli anni 70: un medico oncologo dell'Università di Orebro, Lennart Hardell, notava una strana concentrazione di casi di sarcomi delle parti molli e di linfomi non Hodgkin nei suoi pazienti forestali addetti alla gestione del sottobosco ("deciduous forest"); allora usavano sostanze che oggi fanno rabbrivire (il TCDD: tetraclorodibenzodiossina).

A partire dalle prime segnalazioni scientifiche sulla pericolosità di quei prodotti, Hardell ha proseguito il suo impegno costante nel tempo (23), spalleggiato da colleghi illuminati: ne è derivato che la Svezia ha bandito assai precocemente, fin dalla fine degli anni Settanta, l'uso di molti inquinanti organici - in questo certo facilitata dal non avere coltivazioni intensive di viti da trattare - ; ebbene la Svezia negli ultimi anni vede, in controtendenza rispetto a gran parte del resto d'Europa, scendere il tasso di incidenza dei linfomi presso la sua popolazione (24).

Convinciamoci dunque - per il bene soprattutto delle future generazioni - a bandire consapevolmente i prodotti più nocivi e diffondere in agricoltura i metodi biologici alternativi di difesa delle coltivazioni: l'Europa ci costringerà ben presto volenti o nolenti a farlo!

### **Bibliografia**

- 1) WORLD CANCER REPORT 2014 IARC series
- 2) Growing up with pesticides A.Mascarelli - Science 2013; 341:740-1
- 3) A review of pesticide exposure and cancer incidence in the AHS cohort S.Weichtental et al Environmental Health Perspectives 2010; 118:1117-1125
- 4) Agricultural pesticide use and pancreatic cancer risk in the AHS cohort G.Andreotti et al. Int J Cancer 2009; 124:2495-2500
- 5) Pesticide use and melanoma in pesticide applicators in The AHS LK Dennis et al . EHP 2010; 118:812-817
- 6) Pesticide use and colorectal cancer in the AHS W J Lee et la. Int J cancer 2007; 121:339-346
- 7) Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the AHS cohort MC Alavanja et al. Am J Epidemiol 2003; 157:800-814
- 8) Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the AHS W J Lee et al. Am J Epidemiol 2004; 159:373-380
- 9) Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the AHS A.J.De Roos EHP 2005; 113:49-54
- 10) Cancer incidence among male pesticide applicators in the AHS cohort expose to diazinon L.E.Beane Freeman et al American J Epidem 2005; 162: 1070-1079
- 11) Increased cancer burden among pesticides applicators due to pesticide exposure MC Alavanja et al Cancer Journal for clinicians 2013; 63: 120-142

- 12) An update of cancer incidence in the AHS S.Koutros et al *J Occup Environ Med* 2010; 52:1098-1105
- 13) Chlordecone exposure and risk of prostate cancer L. Multigner et al *JCO* 2010; 28:3457-62
- 14) Pesticide use modifies the association between genetic variant on chromosome 8q24 and prostate cancer S.Koutros *Cancer Res* 2010; 70:9224-9233
- 15) Occupational exposure to pesticides and lymphoid neoplasms: results of a French case-control study L.Orsi et al *Occup Environ Med* 2009; 66:291-298
- 16) Agricultural pesticides exposure and the molecular connection to lymphomagenesis Agopian et al *JEM* 2009; 206:1473-1483
- 17) Brain tumors and exposure to pesticides: a case-control study in southwestern France D.Provost et al *Occup Environ Med* 2007; 64:509-514
- 18) Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings - L.Settimi et al *Int J Cancer* 2003; 104:458-461
- 19) NH lymphoma, leukemia and exposure in agriculture L.Miligi et al *American journal of Industrial Medicine* 2003; 44:627-636
- 20) Cancer risk among farmers in the province of Vercelli from 2002 to 2005 C.Salerno et al. *Annali di Igiene* 2014 vol. 26
- 21) Cancer risk and parental pesticide application in children of AHS participants Kb Flower et al *E H P* 2004; 112:631-635
- 22) Risk of childhood cancers associated with residence in agriculturally intense areas in the United States S E Carozza et al *EHP* 2008; 116:559-565
- 23) Pesticides, soft-tissue sarcoma and non Hodgkin lymphoma: historical aspects on the precautionary principle in cancer prevention L.Hardell *Acta Oncologica* 2008; 47:347-354
- 24) Is the decline of the increasing incidence of NHL in Sweden a result of cancer preventive measures ? L.Hardell and M.Eriksson *EHP* 2003; 111:1704-1706

Lucia Miligi

### **Introduzione**

L'ipotesi che l'esposizione a pesticidi possa provocare non solo effetti di tipo acuto, ma anche cronico ed in particolare effetti sul sistema riproduttivo, effetti teratogeni, cancerogeni ed anche neurologici è oggetto di grande attenzione nel modo scientifico, ma anche di grande preoccupazione nella popolazione. Tale ipotesi assume un particolare rilievo dal punto di vista sanitario e sociale, data la grande diffusione di queste sostanze e il conseguente possibile elevato numero di persone che possono essere esposte, in primo luogo gli addetti alla produzione e formulazione di pesticidi nell'industria e gli addetti all'agricoltura. Anche la popolazione generale, anche se a dosi più basse rispetto alle due categorie precedenti, o perché vive in aree agricole ove i pesticidi sono usati intensamente, o per uso domestico o anche per il consumo di bevande e alimenti contaminati può essere esposta.

Il termine "pesticidi" comprende un gruppo eterogeneo di sostanze chimiche sviluppate per controllare una varietà di parassiti o infestanti. I pesticidi sono generalmente classificati in base al tipo di parassita o infestante per i quali hanno dimostrato un'azione efficace. Le categorie principali sono: insetticidi, erbicidi e fungicidi, sono ampie categorie che comprendono al loro interno diverse classi chimiche con una grande varietà di sostanze chimiche (principi attivi) che hanno proprietà ed effetti diversi. I pesticidi sono stati utilizzati da molto tempo, i composti inorganici, in particolare i composti di arsenico (il cui uso ora è vietato), sono stati i primi ad essere utilizzati. La scoperta dell'insetticida diclorodifenil tricloroetano (DDT) durante il 1940 in Svizzera è stato il primo passo della età moderna della chimica dei pesticidi. Gli insetticidi organofosfati e gli erbicidi fenossiacetici divennero in uso durante questo periodo. La produzione di carbammati e organoclorurati iniziò circa in questo periodo, ma tra il 1960 e il 1970, molti altri nuovi prodotti chimici sono stati sviluppati e introdotti nel mercato. Infine, negli ultimi 20 anni nuove generazioni di pesticidi, quali i piretroidi, sono stati messi sul mercato.

A partire soprattutto dalla metà degli anni 60, l'uso di pesticidi è aumentato nei paesi industrializzati e più recentemente anche in quelli in via di sviluppo, in concomitanza con una crescente preoccupazione della popolazione per i loro possibili effetti sulla salute, in particolare gli effetti a lungo termine.

Un certo numero di pesticidi o gruppi di pesticidi sono stati identificati come certi, probabili e possibili cancerogeni per l'uomo da diverse istituzioni internazionali quale la IARC (2) (Agenzia Internazionale di ricerca sul Cancro, [www.iarc.fr](http://www.iarc.fr), o l'EPA (3)). Alcuni sono stati vietati sia negli Stati Uniti che nella Comunità Europea o hanno limitazioni d'uso. Alcuni pesticidi sono noti per essere promotori, genotossici, mentre altri possiedono proprietà ormonali, immunotossiche, o proprietà ematotossiche.

Gli agricoltori e i lavoratori dell'industria impiegati in impianti chimici per la fabbricazione di pesticidi sono considerati ad alto rischio di sviluppare tumori a seguito dell'esposizione ai pesticidi. Considerando gli agricoltori, diverse attività agricole possono comportare l'esposizione a pesticidi, tra cui la miscelazione, il carico/scarico di pesticidi, la distribuzione/trattamento, la manutenzione/riparazione di macchine e attrezzi agricoli ed il rientro in coltura in zone trattate.

Sono stati condotti diversi studi di mortalità in diversi paesi con l'obiettivo di valutare il rischio di tumore tra gli agricoltori. Gli agricoltori sono risultati a rischio più basso per la maggior parte delle principali cause di morte rispetto alla popolazione generale, in particolare per la mortalità totale, per tutti i tumori considerati nell'insieme, per le malattie cardiovascolari e per alcuni specifici tumori come il tumore ai polmoni, ma, nonostante il rischio di ammalarsi di tumore sia minore della popolazione generale, questo gruppo professionale tende a sperimentare aumentare i rischi per alcuni selezionati tipi di tumore, ed in particolare: sarcomi dei tessuti molli, linfomi non-Hodgkin (NHL), linfoma di Hodgkin (HD), leucemie, mieloma multiplo (MM), e per il tumore della pelle e della prostata (1,4).

Anche i tumori del seno, del testicolo, endometrio, ovaio, fegato, vescica sono stati anch'essi associati all'esposizione a pesticidi ma con minore evidenza (1).

Un certo numero di studi di coorte hanno specificamente considerato gli applicatori di pesticidi e i produttori di pesticidi caratterizzati da esposizione più lunghe e più intense (5).

La maggior parte delle informazioni sul rischio cancerogeno dei pesticidi deriva però da studi epidemiologici di tipo caso-controllo su specifici tumori e, anche se sono spesso limitati dalla difficoltà di identificare l'associazione con i singoli pesticidi, questi studi hanno suggerito che alcune classi chimiche di pesticidi sono associate con i tumori. In particolare alcuni studi, hanno collegato l'esposizione a erbicidi fenossiacetici con il sarcoma dei tessuti molli, il NHL, il MM e le leucemie; i composti organofosforici con LNH e leucemie; gli erbicidi triazinici con i tumori dell'ovaio (1).

Inoltre i composti organoclorurati sono stati collegati con tumori al seno e il tumore alla prostata è stato associato principalmente con organofosfati e organoclorurati (6).

### **Esposizione a pesticidi e neoplasie maligne del sistema emolinfopoietico.**

L'esposizione alle diverse classi di pesticidi è stata associata in particolare con le neoplasie maligne dell' sistema emolinfopoietico e l'attenzione è stata particolarmente focalizzata sul NHL. Infatti l'incidenza di questo tumore è andata aumentando dalla fine degli anni '80 sia negli USA che in altri paesi industrializzati fino a raggiungere un arresto nei ultimi anni, l'esposizione a pesticidi è stata suggerita avere un possibile ruolo nell'aumento di incidenza del NHL.

NHL e pesticidi. Le prime osservazioni provengono da studi di coorte sugli agricoltori in cui è stato osservato un aumento del rischio di NHL (4-8), ma il ruolo dei pesticidi specifici è stata studiato principalmente nel contesto di studi epidemiologici di tipo caso-controllo. Particolare attenzione è stata data al possibile ruolo degli erbicidi fenossiacetici. Dopo un primo studio condotto in Svezia (9) che aveva osservato un aumento del rischio di linfomi maligni tra i lavoratori agricoli esposti agli erbicidi fenossiacetici, altri studi caso-controllo condotti in diverse parti del mondo, Nuova Zelanda (10), Stati Uniti (11-14), Svezia (15,16), Canada (17), si sono concentrati su questo argomento. I risultati osservati in questi studi hanno mostrato variazioni nelle stime di rischio relativo (RR); il primo studio in Svezia ha osservato un significativo aumento del RR di più di quattro volte tra gli esposti rispetto ai non esposti (9), anche confermato nel successivo studio svedese (15), ma l'entità del rischio non è stata replicata in altri studi svedesi (16). Lo studio americano condotto in Kansas (11) ha mostrato un duplice aumentato rischio e un altro studio americano condotto in Nebraska (12) ha osservato un rischio non significativo di 1,5.

Altri studi ci hanno mostrato invece solo lievi aumenti di rischio (13,14). Anche uno studio in Nuova Zelanda ha trovato scarsa evidenza di aumento del rischio per tale esposizione e NHL (10). Infine uno studio canadese ha mostrato un rischio aumentato di NHL (17) per una vasta gamma di classi chimiche di pesticidi, tra cui gli erbicidi fenossiacetici. Gli studi che hanno messo in relazione gli erbicidi fenossiacetici con il rischio di NHL, hanno osservato aumenti in particolare per alcuni composti specifici in particolare il 2,4 D e l' MCPA.

Anche nello studio italiano multicentrico sui tumori maligni del sistema emolinfopoietico (18) su 1575 casi e 1232 controlli in 9 aree italiane prevalentemente agricole o miste, ha mostrato livelli elevati di rischio per NHL per esposizione a 2,4 D ed MCPA quando l'analisi è stata ristretta ai soggetti che non hanno mai usato dispositivi di protezione individuale.

Tra gli studi di coorte, lo studio collaborativo IARC tra i lavoratori di produzione di pesticidi e gli applicatori professionali di pesticidi merita attenzione. Questo studio, che ha riunito 21.863 lavoratori in 36 coorti in 12 paesi (19,20) ha mostrato un lieve aumento del rischio per esposizione ad erbicidi fenossiacetici.

Le differenze di rischio nei risultati degli studi possono essere dovute al tipo specifico di erbicidi fenossiacetici utilizzati (ad esempio l'acido 2,4-diclorofenossiacetico rispetto al 2,4,5 - triclorofenossiacetico [2,4,5-T]), o da diversi livelli o assenza di contaminanti (1) tra cui di 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-diossina (TCDD) che può essere un possibile contaminante del 2,4,5-T (21), oppure da differenze nelle pratiche colturali nei diversi paesi, determinate anche dal diverso clima nei vari paesi.

L'aumento del rischio di NHL è stato anche associato anche ad altre classi chimiche di pesticidi quali gli organofosfati o gli insetticidi organoclorurati, le triazine (9,12,13,22,23).

Alla luce di questi risultati nel 2007 è stata condotta anche una meta-analisi che ha preso in esame 13 studi ed ha osservato un significativo aumento di rischio per il NHL e l'esposizione a pesticidi che diventa più elevato con la durata di esposizione oltre i 10 anni (24) .

Più recentemente una revisione sistematica e meta-analisi degli studi su linfomi e pesticidi condotti negli ultimi trent'anni, ha cercato di fornire informazioni su numerose specifiche classi chimiche, 21, e specifici principi attivi, 44 (25). Gli autori hanno osservato un rischio per esposizione agli erbicidi



fenossiacetici, agli insetticidi carbammati, agli insetticidi organofosforici ed al principio attivo lindano, agli insetticidi organoclorurati. Nella meta-analisi gli autori hanno inoltre riportato i risultati anche per specifici sottotipi di linfoma osservando aumenti di rischio per linfoma a cellule B ed esposizione a fenossiacidi ed all'erbicida organofosforico glifosate, mentre il linfoma diffuso a cellule B è stato associato all'uso di erbicidi fenossiacetici (25).

Anche i risultati dello studio caso-controllo multicentrico italiano hanno mostrato che l'esposizione a diverse classi chimiche, nitro-derivati e fenilimmidi tra i fungicidi, i derivati degli idrocarburi, i fosforoamidi e oli insetticidi tra gli insetticidi, e triazine ammine tra gli erbicidi è risultata associata con le patologie in studio (26).

Leucemie, mieloma multiplo e pesticidi. Anche le leucemie sono state associate con l'esposizione a pesticidi come confermato dalla citata meta-analisi (24) dove è stato osservato un rischio, basato su 7 studi, di 1,35 anche se non statisticamente significativo.

Per quanto riguarda il mieloma multiplo, un lieve aumento di rischio, ai limiti della significatività, è stato osservato nella meta-analisi sulla base di 9 studi (24).

Pochi studi hanno indagato i vari sottotipi di leucemie e sono andati nel dettaglio dell'esposizione. Tra gli studi lo studio multicentrico italiano, ha osservato aumenti di rischio per esposizione a carbammati e fosforoamidi nelle donne e ad oli insetticidi negli uomini (26).

Un recente studio su esposizione a pesticidi e mieloma multiplo, ha osservato un aumento di rischio soprattutto per uso di fungicidi e per uso combinato di più famiglie chimiche (carbammati, fenossiacidi, ed organo clorurati); tra i singoli principi attivi aumenti di rischio sono stati rilevati per carbaryl, e captano e mecoprop con uso per lo meno di 2 giorni all'anno (27).

### **Tumori infantili**

Tra i possibili fattori di rischio associati alle neoplasie maligne dell'infanzia sono state suggerite alcune attività lavorative ed alcune esposizioni occupazionali a sostanze chimiche ed ad agenti fisici dei genitori. Sull'argomento sono stati condotti numerosi studi e scritte alcune rassegne alcune delle quali concernenti i pesticidi (28, 29).

Il rischio di tumori infantili potrebbe derivare o dal possibile danno alle cellule germinali (per esposizioni lavorative prima del concepimento) o per esposizione diretta al bambino (per esposizione transplacentare o postnatale dovuta in questo caso al possibile trasporto involontario di inquinanti dall'ambiente di lavoro a quello domestico).

I bambini possono essere esposti a pesticidi perché:

- Vivono in fattoria o vicino ad una fattoria (30). L'esposizione si può verificare durante i trattamenti, ma anche prima e dopo. L'esposizione può essere portata in ambiente domestico dagli stessi parenti attraverso i vestiti e i dispositivi utilizzati in agricoltura (31)

- Pesticidi usati in ambiente domestico, orti, giardini (uso di prodotti per piante ornamentali con possibile contaminazione del pavimento, dove, specie da piccolo, il bambino può soggiornare spesso; o attraverso i giocattoli)

- Acqua ed alimenti

Un certo numero di studi epidemiologici ha osservato costantemente un aumento del rischio tra le esposizioni a pesticidi e leucemia infantile, tumori cerebrali, neuroblastoma, linfoma non-Hodgkin, tumore di Wilms, e il sarcoma di Ewing. (28).

Sono stati osservati aumenti di rischio di tumori infantili:

Per uso di pesticidi da parte dei genitori in casa o nel giardino, occupazione della madre in agricoltura o uso di pesticidi durante la gravidanza, per occupazione del padre, per esposizione diretta del bambino.

Molti dei tumori infantili associati a pesticidi, sono stati ripetutamente associati anche nell'adulto (Leucemie, Linfomi). Nonostante che i numerosi studi condotti (per lo più di tipo caso-controllo) siano limitati dalla mancanza di informazioni specifiche sui pesticidi, o dal numero limitato di soggetti esposti o da possibili distorsioni dovuti al ricordo, l'entità dei rischi osservati è maggiore rispetto all'adulto facendo presupporre una maggiore suscettibilità dei bambini a queste sostanze.

Dopo la rassegna pubblicata nel 1998 (28), sono stati pubblicati numerosi altri studi che hanno indagato i tumori infantili, confermando specie per alcuni tipi di tumore, l'aumento del rischio sia per esposizione residenziale a pesticidi che per l'esposizione professionale dei genitori.

Uno dei punti cruciali di questi studi rimane la definizione dell'esposizione ed in particolare il periodo in cui l'esposizione si è verificata, infatti definire bene la finestra temporale di esposizione può

essere un fattore determinante per gli effetti biologici associati con l'esposizione di pesticidi sui bambini, per fornire informazioni definitive sul periodo più vulnerabile. La valutazione dell'esposizione accurata resta una sfida; i futuri studi epidemiologici dovrebbero anche valutare le interazioni gene-ambiente e l'uso di migliori misure di esposizione, tra cui interviste separate dei genitori, specifiche domande sull'esposizione a pesticidi, e misure semiquantitative di esposizione che possono essere utilizzati per confermare le informazioni ottenute attraverso questionari.

Una recente meta-analisi su 38 studi casi-controllo e due studi di coorte (32) ha messo in risalto un rischio aumentato e significativo per esposizione a pesticidi della madre durante il periodo prenatale e linfomi e leucemie; mentre un aumento di tumori cerebrali per esposizione paterna a pesticidi sia prima che dopo la nascita. Nella rassegna gli autori concludono che pur con i limiti dello studio, l'incidenza dei tumori infantili sembra essere associata ad esposizione dei genitori in particolare durante il periodo prenatale.

La leucemia infantile è il tumore che è stato maggiormente associato con l'esposizione a pesticidi, una recente revisione e meta analisi degli studi condotti dal 1985 al 2008, ha mostrato un rischio elevato e significativo per esposizione materna a pesticidi e per tutte le finestre temporali considerate per la leucemia linfatica acuta, ma non per l'esposizione paterna anche se per alcune finestre temporali e per alcuni categorie di biocidi si è osservato un aumento di rischio. (33).

Un recente studio di vaste dimensioni (8236 casi e 14.850 controlli) che ha preso in considerazione 13 studi caso-controllo, tra cui lo studio italiano SETIL, che partecipano al Consorzio Internazionale sulle Leucemie Infantili (CLIC), ha mostrato un rischio elevato e significativo per esposizione occupazionale in particolare per la leucemia mieloide acuta ed esposizione occupazionale materna durante il periodo della gravidanza; è stato anche osservato un lieve incremento di rischio di leucemia linfatica acuta per esposizione paterna nel periodo del concepimento più evidente nei bambini con diagnosi all'età di 5 o più anni (34).

### **Esposizione ambientale a pesticidi**

La popolazione generale può essere esposta a pesticidi da diverse fonti che possono essere diverse nella popolazione adulta rispetto a quella infantile, per esempio il luogo dove è collocata la residenza rispetto alle coltivazioni dove vengono fatti i trattamenti, se la stessa residenza è oggetto di trattamenti con pesticidi, l'occupazione dei familiari, la volatilità dei composti, la persistenza dei pesticidi nell'ambiente e altre proprietà fisiche e chimiche dei pesticidi. Anche l'acqua e gli alimenti possono essere una possibile fonte di pesticidi.

I bambini possono sperimentare inoltre un rischio maggiore degli adulti per le loro caratteristiche fisiche e dietetiche, ma anche comportamentali (giocare per terra su superfici che possono essere contaminate) durante il loro sviluppo.

E proprio nei bambini anche la dieta può essere una fonte importante di possibile esposizione a pesticidi; per esempio il consumo di prodotti "biologici" è stato associato con un livello urinario più basso di metaboliti di pesticidi organo fosforici come mostrato in uno studio (35).

Da una revisione sistematica sugli alimenti biologici appare infatti che sono meno contaminati da residui di pesticidi rispetto a quelli tradizionali (36), ma non c'è differenza per quanto riguarda la composizione dei nutrienti (36).

L'evidenza di una riduzione del rischio di tumori associati all'uso di alimenti biologici però non è stata ancora studiata in maniera esaustiva, anche se un recente ed ampio studio prospettico su 623.080 donne che ha esaminato questa ipotesi, ha osservato una piccola se non assente riduzione per i tumori presi in considerazione (sarcoma dei tessuti molli, tumore della mammella) fuorché per il linfoma non Hodgkin. (37)

Per quanto riguarda l'esposizione residenziale a pesticidi e leucemia infantile, una recente revisione degli studi condotti tra il 1987 ed il 2009 (tredici studi di tipo caso controllo), ha messo in evidenza un rischio elevato, con rischi più elevati per esposizione dei genitori durante la gravidanza e soprattutto per esposizioni indoor ad insetticidi e leucemia linfatica acuta (38). Anche in un'altra meta-analisi pubblicata nel 2011 (39), è stato osservato un rischio maggiore di leucemie infantili per esposizione residenziale a pesticidi in generale ed erbicidi in gravidanza, mentre l'esposizione durante l'infanzia è maggiormente associata con pesticidi e insetticidi.

### **Considerazioni conclusive**

In conclusione, dagli studi epidemiologici sull'esposizione a pesticidi e tumori emerge un possibile rischio associato all'uso di queste sostanze.

Gli agricoltori ed i produttori di pesticidi sono le categorie che sono o sono state maggiormente esposte e possono essere a maggior rischio per lo sviluppo di tumori, gli studi epidemiologici soprattutto quelli di tipo caso controllo che hanno studiato l'esposizione lavorativa, ci hanno fornito informazioni importanti sul rischio di tumore derivante dall'esposizione a queste sostanze.

L'informazione più dettagliata sull'esposizione proveniente dagli studi caso-controllo ci ha mostrato come sia i pesticidi nella loro accezione più ampia, che alcune classi chimiche e principi attivi sono stati associati con diversi tipi di tumori maligni. I tumori emolinfopoietici sono stati quelli più frequentemente associati con una varietà di esposizioni a pesticidi in ambito agricolo. L'associazione tra NHL e pesticidi è stata intensamente studiata e studi condotti con questo obiettivo possono servire come "paradigma" per comprendere la complessità degli studi epidemiologici su tumori e pesticidi.

Un punto critico rimane la valutazione dell'esposizione. Infatti, la progettazione e l'interpretazione di indagini epidemiologiche sono spesso ostacolate dalla complessità dell'esposizione e dalla difficoltà nel documentare l'esposizione passata. La difficoltà maggiore è nella valutazione del rischio associato con pesticidi specifici dato il cambiamento nel tempo dell'uso delle formulazioni chimiche e le variazioni nelle pratiche del lavoro agricolo. Le differenze tra i risultati degli studi possono anche essere dovute al fatto che all'interno delle numerose classi di principi attivi ci sono sostanze con strutture chimiche diverse e diverse proprietà mutagene, cancerogene, o immunotossiche. Inoltre, diverse formulazioni commerciali possono avere diverse percentuali di principi attivi e contenere ingredienti inerti o anche solventi.

Le analisi combinate sui diversi studi (meta-analisi) su pesticidi e tumori stanno portando contributi importanti per la conoscenza del rischio derivante da questa ampia classe di sostanze quali sono i pesticidi.

Inoltre i nuovi studi epidemiologici prospettici come l' "Agricultural health study" (AHS) (<http://aghealth.nih.gov/>), stanno fornendo indicazioni fondamentali. L'AHS è infatti uno studio prospettico sui tumori ed altre esiti di salute in una coorte di applicatori di pesticidi, e dei loro coniugi, dello Iowa e North Carolina. Il AHS è iniziata nel 1993 con l'obiettivo di rispondere a domande importanti su come l'esposizione in agricoltura, stile di vita e fattori genetici influenzano la salute delle popolazioni agricole. Lo studio è collaborativo e coinvolge ricercatori provenienti da National Cancer Institute, il National Institute of Environmental Health Sciences, l'Environmental Protection Agency. Più di 89.000 agricoltori e dei loro coniugi in Iowa e North Carolina hanno partecipato allo studio.

I bambini sembrano essere più vulnerabili all'esposizioni a pesticidi ed i recenti ed ampi studi internazionali sul rischio da esposizione a pesticidi dei genitori per motivi professionali o residenziali stanno fornendo informazioni che non devono essere trascurate.

Alcuni principi attivi sono stati valutati come cancerogeni e sono stati banditi sia in Europa che in USA, anche se i meccanismi della cancerogenicità dei pesticidi non sono stati ancora del tutto compresi, per la riduzione del rischio un approccio che enfatizzi la riduzione dell'esposizione a tutti i pesticidi dovrebbe essere auspicabile.

La prevenzione si attua con il controllo e con l'uso corretto di queste sostanze, in primo luogo in ambito lavorativo - a cominciare ovviamente dalla produzione- e di conseguenza nei successivi passaggi - compreso il controllo sugli alimenti - che possono coinvolgere anche la popolazione generale.

E' fondamentale inoltre che vengano attuate politiche di controllo perché non succeda che i pesticidi più pericolosi, magari vietati nella CE e negli USA, vengano esportati nei paesi in via di sviluppo.

L'evidenza epidemiologica suggerisce un'associazione tra i tumori ed esposizioni a pesticidi anche se, data la complessità della materia, tale evidenza non può definirsi conclusiva, ma proprio per questo motivo un approccio cautelativo o meglio l'adozione del "principio di precauzione" dovrebbe essere preso in considerazione. Il principio di precauzione è stato richiamato del resto nelle nuove normative ed in particolare in quella sull'uso sostenibile dei pesticidi (Direttiva 2009 /13 del parlamento europeo e del consiglio, e l'Adozione del Piano di azione nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, ai sensi dell'articolo 6 del decreto legislativo 14 agosto 2012, n. 150 recante: «Attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei

pesticidi») che istituisce un quadro normativo per l'azione comunitaria ai fini di realizzare un uso sostenibile dei prodotti fitosanitari riducendo i rischi e l'impatto sulla salute umana e sull'ambiente promuovendo l'uso della difesa integrata e di approcci e tecniche alternative di coltivazione .

### **Bibliografia**

- 1) Dich, J. et al. 1997. Pesticides and cancer. *Cancer Causes Control*. 8(3): 420-443.
- 2) IARC. 1986. Some Halogenated Hydrocarbons and Pesticides Exposures - IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, Vol. 41, IARC Lyon. [www.iarc.it](http://www.iarc.it)
- 3) U.S. EPA 2004, [www.epa.gov/](http://www.epa.gov/)
- 4) Blair, A. & Zahm SH. 1991. Cancer among farmers. *Occup. Med.*6;3: 335-354
- 5) Burns, CJ. 2005. Cancer among pesticide manufacturers and applicators. *Scand. J. Work Environ. Health*. 31 Suppl 1: 9-17.
- 6) Jaga, K. & Dharmani C. 2005. The epidemiology of pesticide exposure and cancer: A review. *Rev. Environ. Health*. Jan-Mar;20(1):15-38.
- 7) Hartge, P. Devesa, S. S. Fraumeni, J.F. Jr. 1994. Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Surv*. 19-20: 423-453.
- 8) Zahm, SH. & Blair, A 1992. Pesticides and non-Hodgkin's lymphoma *Cancer Res*. Oct 1;52(19 Suppl): 5485s-5488s..
- 9) Hardell, L. et al. 1981. Malignant lymphoma and exposure to chemicals, especially organic solvents, chlorophenols and phenoxy acids: a case-control study. *Br. J. Cancer*. 43: 169-176.
- 10) Pearce, N.E. et al. Non-Hodgkin's lymphoma and farming: an expanded case-control study. 1987. *Int. J. Cancer*. 39: 155-161.
- 11) Hoar, S. K. et al. 1986. Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. *JAMA*.256: 1141-1147.
- 12) Zahm, S. H. et al. 1990. A case-control study of non Hodgkin's lymphoma and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in eastern Nebraska. *Epidemiology*. 1: 349-356.
- 13) Cantor, K.P. et al. 1992. Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodgkin's Lymphoma among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res*.(Supp)52: 2447-2455.
- 14) Woods, J.S. et al. 1987. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in relation to phenoxyherbicide and chlorinated phenol exposure in western Washington. *J. Natl. Cancer Inst.*. 78: 899-910.
- 15) Persson, B. et al. 1993. Some occupational exposures as risk factors for malignant lymphomas. *Cancer*. Sept 1;72: 1773-8.
- 16) Hardell, L. & Eriksson, M. 1999. A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer*. 85: 1353-1360.
- 17) Mc Duffie, H. et al. 2001. Non Hodgkin's lymphoma and specific pesticides exposures in Man: Cross-Canada study of pesticides and Health. *Cancer Epidemiol, Biomarkers Prev*. 10: 1155-1163.
- 18) Miligi L1, et al. .Cancer and pesticides: an overview and some results of the Italian multicenter case-control study on hematolymphopoietic malignancies. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Sep;1076:366-77
- 19) Saracci, R. et al. 1991. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. *Lancet*. Oct 26;338(8774):.1027-1032.
- 20) Kogevinas, M. et al. 1995. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins: two nested case-control studies. *Epidemiology*. Jul;6(4): 396-402.
- 21) Lilienfeld, D.E. & Gallo, M.A. 1989. 2,4-D, 2,4,5-T, and 2,3,7,8-TCDD: an review. *Epidemiol. Rev*.11: 28-58.
- 22) Nanni, O. et al. 1996. Chronic lymphocytic leukaemias and non-Hodgkin's lymphomas by histological type in farming-animal breeding workers: a population case-control study based on a priori exposure matrices. *Occup. Environ. Med*. Oct;53(10): 652-657.
- 23) Zheng, T. et al. 2001. Agricultural exposure to carbamate pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma. *J. Occup. Environ. Med*. Jul;43(7): 641-649.
- 24) .Merhi M1 et al..Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. *Cancer Causes Control*. 2007 Dec;18(10):1209-26. 15.
- 25) Schinasi L, Leon ME. Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2014 Apr 23;11(4):4449-527.

- 26) Miligi, L. et al. 2003. Non-Hodgkin's Lymphoma, leukemia and exposures in agriculture: results from the Italian multicenter case-control study. *Am. J. Ind. Med.* 44: 627-636.
- 27) Kachuri L et al..Multiple pesticide exposures and the risk of multiple myeloma in Canadian men. *Int J Cancer.* 2013 Oct 15;133(8):1846-58.
- 28) Zahm SH, Ward MH Pesticides and childhood cancer. *Environ Health Perspect.* 1998 Jun;106 Suppl 3:893-908.
- 29) Infante-Rivard C, Weichenthal S Pesticides and childhood cancer: an update of Zahm and Ward's 1998 review. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2007 Jan-Mar;10(1-2):81-99.
- 30) Lambert WE, et al. Variation in organophosphate pesticide metabolites in urine of children living in agricultural communities. *Environ Health Perspect.* 2005 Apr;113(4):504-8.
- 31) Curwin BD1 et al. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in iowa. *Ann Occup Hyg.* 2007 Jan;51(1):53-65. Epub 2006 Sep 19.
- 32) Vinson F1, et al. Exposure to pesticides and risk of childhood cancer: a meta-analysis of recent epidemiological studies. *Occup Environ Med.* 2011 Sep;68(9):694-702
- 33) Van Maele-Fabry G, Hoet P, Lison D. Parental occupational exposure to pesticides as risk factor for brain tumors in children and young adults: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int.* 2013 Jun;56:19-31.
- 34) Bailey HD, Fritschi L, Infante-Rivard C, Glass DC, Miligi L, et. al. Parental occupational pesticide exposure and the risk of childhood leukemia in the offspring: findings from the childhood leukemia international consortium. *Int J Cancer.* 2014 Nov 1;135(9):
- 35) Lu C, et al. Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. *Environ Health Perspect.* 2006 Feb;114(2):260-3.
- 36) Smith-Spangler C1, et al..Are organic foods safer or healthier than conventional alternatives?: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2012 Sep 4;157(5):348-66.
- 37) Bradbury KE1, et al. Organic food consumption and the incidence of cancer in a large prospective study of women in the United Kingdom. *Br J Cancer.* 2014 Apr 29;110(9):2321-6. doi: 10.1038/bjc.2014.148. Epub 2014 Mar 27.
- 38) Turner MC, Wigle DT, Krewski D. Residential pesticides and childhood leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Cien Saude Colet.* 2011 Mar;16(3):1915-31. Review.
- 39) Van Maele-Fabry G, Lantin AC, Hoet P, Lison D. Residential exposure to pesticides and childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int.* 2011 Jan;37(1):280-91. doi: 10.1016/j.envint.2010.08.016. Review.