Studio di biomonitoraggio di sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) nella Regione del Veneto

Determinazione della concentrazione dei biomarcatori di esposizione nel siero
Analisi genetica di una variante allelica del trasportatore renale OATP1A2

Lo studio ha avuto l'obiettivo di caratterizzare l'esposizione a sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) in soggetti residenti in aree di alcune Province del Veneto interessate da presumibile esposizione incrementale a questi inquinanti, rispetto a gruppi di popolazione di controllo residente in altre aree geografiche del Veneto (vedi Fig. 1)
Nell'ambito di questo studio l'analisi genetica ha avuto l'obiettivo di caratterizzare i soggetti arruolati per la presenza di una variante allelica del trasportatore renale OATP1A2 presumibilmente coinvolto nel bilanciamento secrezione/riassorbimento di tali sostanze.
Le aree a presumibile esposizione incrementale sono state identificate in base ai dati disponibili sulla contaminazione da PFAS della filiera idrica. Tali dati erano relativi a campionamenti effettuati prima dell'abbattimento della contaminazione nell'acqua potabile di rete, a seguito di un parere dell'ISS rilasciato all'inizio del 2014.
Hanno partecipato allo studio le Aziende ULSS:
ULSS 5 Ovest Vicentino e ULSS 6 Vicenza (area a esposizione incrementale);
ULSS 6 di Vicenza, 8 di Asolo, 9 di Treviso, 15 di Cittadella, 22 di Bussolengo (area di controllo).

Sono stati selezionati i seguenti comuni:

- per l'area a esposizione incrementale: Montecchio Maggiore, Lonigo, Brendola, Creazzo, Altavilla, Sovizzo, Sarego;
- per l'area di controllo: Mozzecane, Dueville, Carmignano, Fontaniva, Loreggia, Resana, Treviso.

Lo studio ha previsto la determinazione delle concentrazioni nel siero dei seguenti inquinanti, identificati in base a rilevanza espositiva e tossicologica:

acido perfluorobutanoico (PFBA)
acido perfluoropentanoico (PFPeA)
acido perfluoroesanoico (PFHxA)
acido perfluotoeptanoico (PFHpA)
acido perfluoroottanoico (PFOA)
acido perfluorononanoico (PFNA)
acido perfluorodecanoico (PFDeA)
acido perfluoroundecanoico (PFUnA)
acido perfluorododecanoico (PFDoA)
perfluorobutansulfonato (PFBS)
perfluoroesansulfonato (PFHxS)
perfluoroottansulfonato (PFOS).

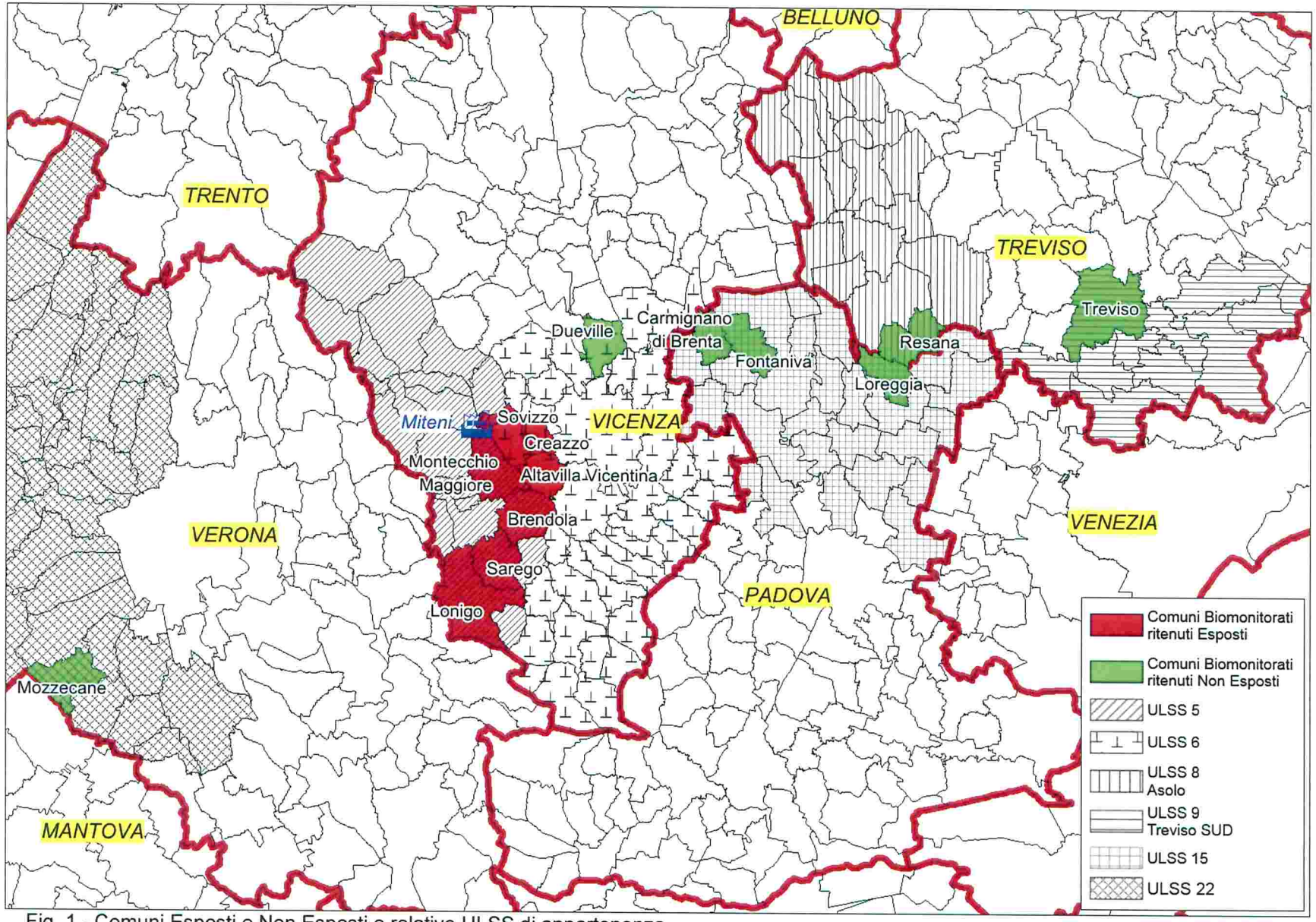


Fig. 1 - Comuni Esposti e Non Esposti e relative ULSS di appartenenza

Lo studio ha previsto, inoltre, la genotipizzazione degli individui mediante un test genetico specifico per la variante *3 del trasportatore renale OATP1A2.

Il disegno dello studio prevedeva la partecipazione di: 1) soggetti reclutati tra la popolazione generale dei Comuni selezionati; 2) operatori e residenti di aziende zootecniche.

1) Studio sulla popolazione generale dell'area di impatto e di controllo
Lo studio prevedeva l'arruolamento di 480 soggetti, 240 residenti nei Comuni sotto impatto e 240 residenti nei Comuni a presumibile esposizione di fondo. In ogni area dovevano essere arruolati 120 soggetti per sesso, 40 per ognuna delle classi di età: 20-29, 30-39 e 40-49 anni.
Ogni soggetto doveva essere residente nell'area da almeno 10 anni.

2) Studio sugli operatori e residenti di aziende zootecniche
La selezione delle aziende è stata orientata dalla presenza di specifici fattori di rischio, quali:
- Consumo di alimenti di produzione propria sia di origine animale (animali allevati al pascolo e a terra, e prodotti derivati) che vegetale (in particolare, verdure a foglia larga e tuberi);
- Livelli di contaminazione (anche pregressa) delle acque utilizzate per consumo umano, irriguo e zootecnico.
Lo studio (tuttora in corso) prevede l'arruolamento di 120 soggetti residenti nelle 20-30 aziende selezionate, stesse classi di età previste per la popolazione generale, 60 soggetti per sesso, residenza nell'azienda da almeno 10 anni.

Risultati disponibili al 14/4/2016

Alla data del presente rapporto è stata ultimata l'analisi dell'ultimo gruppo di campioni di siero/sangue prelevati dalle USLL, pervenuti a questo Istituto in data 5 aprile u.s..
Lo studio sulla popolazione generale risulta pertanto completato per quanto riguarda la determinazione dei livelli nel siero delle sostanze di interesse, e l'analisi genetica nei soggetti arruolati. E' in corso l'analisi delle correlazioni tra i livelli osservati e le variabili da questionario.

Lo studio sugli operatori e residenti di aziende zootecniche è tuttora in corso, essendo stati prelevati e analizzati finora solo 22 campioni di siero dei 120 previsti.

Biomarcatori di esposizione
Per quanto riguarda lo studio sulla popolazione generale, in fase di arruolamento sono state effettuate dalla Regione alcune modifiche della numerosità prevista per le varie classi di età. I campioni analizzati dal Reparto di Chimica Tossicologica sono stati pertanto 507 rispetto ai 480 previsti, relativi a 257 soggetti residenti nei comuni identificati come a possibile esposizione incrementale ("esposti") e 250 soggetti residenti nell'area di controllo ("non esposti").
Non tutti gli analiti ricercati sono risultati al di sopra del limite di quantificazione (LOQ) nei campioni. La percentuale dei valori determinabili è risultata essere > 50% per PFHpA, PFDA, PFUdA, PFHxS, PFNA, PFOS e PFOA. In particolare PFOS e PFOA, che rappresentano le sostanze di maggior rilievo sotto il profilo espositivo e tossicologico, sono stati rilevati in tutti i campioni analizzati.

In base ai risultati dell'analisi statistica descrittiva (riportata in Tabella 1), si evidenzia quanto segue.
Per nove delle sostanze analizzate (PFBA, PFPeA, PFBS, PFHxA, PFHpA, PFHxS, PFOA, PFOS e PFDoA) le concentrazioni nel siero dei residenti nei Comuni a esposizione incrementale sono risultate significativamente superiori ($p<0.05$) a quelle dei residenti dei comuni dell'area di controllo. Per tutte queste sostanze, e anche per il PFNA, si osservano nella ULSS 5 concentrazioni significativamente più elevate che nella ULSS 6.
Per i due analiti di maggior interesse sanitario, PFOS e PFOA, sui quali sono stati effettuati il maggiore numero di studi a livello internazionale, è possibile effettuare un confronto con dati disponibili in letteratura (Figura 1 e Figura 2). Tali dati riguardano gruppi di popolazione generale italiana (Ingelido et al., 2010; De Felip et al., 2015) e degli USA (NANHES, 2011), e gruppi di popolazione esposta, in diversi Paesi, in condizioni analoghe a quella del presente studio (West Virginia e Ohio (USA); Minnesota (USA); Amsberg (Germania); Uppsala (Svezia)).

In Figura 3 viene riportato il confronto con i dati relativi al più vasto studio di biomonitoraggio di PFAS ad oggi disponibile, condotto su popolazione esposta ad acqua contaminata residente in sei diversi distretti di West Virginia ed Ohio, USA (C8 Health Project, 69 030 soggetti arruolati, periodo di arruolamento 2005-2006. Frisbee et al., 2009).

Analisi genetica

I soggetti arruolati sono stati caratterizzati geneticamente rispetto alla variante polimorfica OATP1A2*3 (A516C) del gene che codifica per una delle proteine coinvolte nel trasporto renale dei PFAS per la loro eliminazione (bilancio tra secrezione/riassorbimento).

I dati, a tutt'oggi disponibili, indicano che non c'è relazione tra i livelli di dose interna dei PFAS e il genotipo.

La dose interna così come evidenziata dallo studio di biomonitoraggio è determinata essenzialmente dall'esposizione esterna e non dalle caratteristiche genetiche individuali studiate.

Prime considerazioni

Alcune elaborazioni preliminari sembrano confermare che la individuazione delle aree dei Comuni esposti e non esposti, sulla base dei livelli di PFAS nelle acque con potenziale uso umano, sia adeguata con il disegno dello studio di biomonitoraggio, in accordo con i dati di letteratura che indicano le "acque" come via principale di esposizione ai PFAS.

Tabella 1

Statistica descrittiva dei due gruppi di popolazione (esposti – non esposti).

	N	Minimo	P_5	P_{25}	Mediana	Media Geometrica	Media	P_{75}	P_{95}	Massimo
NON ESPOSTI										
PFBA	250	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.08	0.16	0.35
PFPeA	250	0.01	0.01	0.01	0.03	0.03	0.04	0.05	0.13	0.22
PFBS	250	0.02	0.03	0.03	0.04	0.05	0.06	0.06	0.11	0.36
PFHxA	250	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.04	0.09	0.26
PFHpA	250	0.01	0.01	0.02	0.03	0.03	0.05	0.07	0.13	0.26
PFHxS	250	0.03	0.18	1.42	2.49	1.94	2.77	3.99	6.04	9.14
PFOA	250	0.32	0.57	1.10	1.64	1.56	1.89	2.22	3.92	27.9
PFNA	250	0.04	0.23	0.41	0.58	0.57	0.68	0.80	1.34	7.72
PFOS	250	0.56	2.07	3.89	5.84	6.16	8.25	9.31	20.7	119
PFDA	250	0.03	0.12	0.24	0.32	0.33	0.41	0.49	0.97	3.07
PFUdA	250	0.01	0.01	0.11	0.18	0.16	0.24	0.30	0.62	1.35
PFDoA	250	0.01	0.01	0.02	0.04	0.04	0.09	0.08	0.18	1.67
ESPOSTI										
PFBA	257	0.02	0.02	0.04	0.12	0.10	0.19	0.21	0.58	3.59
PFPeA	257	0.01	0.01	0.04	0.07	0.06	0.09	0.10	0.31	0.46
PFBS	257	0.03	0.04	0.08	0.15	0.16	0.23	0.25	0.69	4.26
PFHxA	257	0.01	0.01	0.03	0.05	0.06	0.08	0.08	0.27	0.68
PFHpA	257	0.01	0.02	0.03	0.05	0.05	0.07	0.10	0.21	0.42
PFHxS	257	0.09	0.20	1.22	2.98	2.75	5.49	6.92	21.2	43.4
PFOA	257	0.70	2.21	4.89	13.8	19.0	61.0	87.3	248	754
PFNA	257	0.05	0.22	0.40	0.61	0.58	0.70	0.88	1.54	2.46
PFOS	257	0.93	2.72	5.53	8.69	8.88	11.67	15.0	29.4	70.3
PFDA	257	0.04	0.09	0.22	0.33	0.32	0.40	0.51	0.86	1.96
PFUdA	257	0.01	0.04	0.09	0.16	0.16	0.22	0.30	0.56	1.02
PFDoA	257	0.01	0.02	0.07	0.12	0.11	0.18	0.16	0.74	1.33

Nell'elaborazione dei dati i valori risultati essere al di sotto del limite di quantificazione e (<LOQ) sono stati inseriti come $LOQ/\sqrt{2}$.

Figura 1

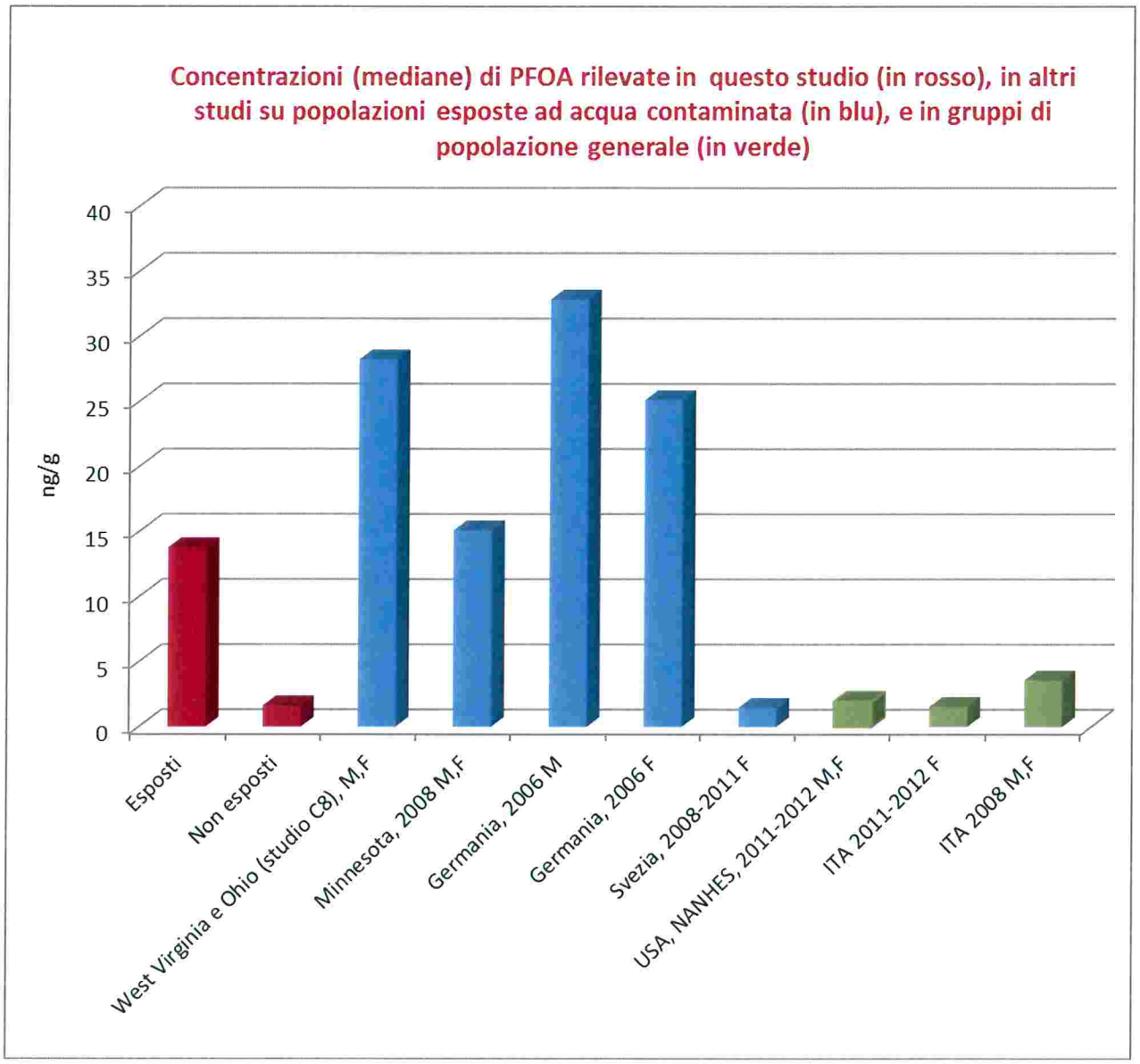

Concentrazioni (mediane) di PFOA rilevate in questo studio (in rosso), in altri studi su popolazioni esposte ad acqua contaminata (in blu), e in gruppi di popolazione generale (in verde)
ng/g
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Esposti
Non esposti
West Virginia e Ohio (studio C8), M,F
Minnesota, 2008 M,F
Germania, 2006 M
Germania, 2006 F
Svezia, 2008-2011 F
USA, NANHES, 2011-2012 M,F
ITA 2011-2012 F
ITA 2008 M,F

Figura 2

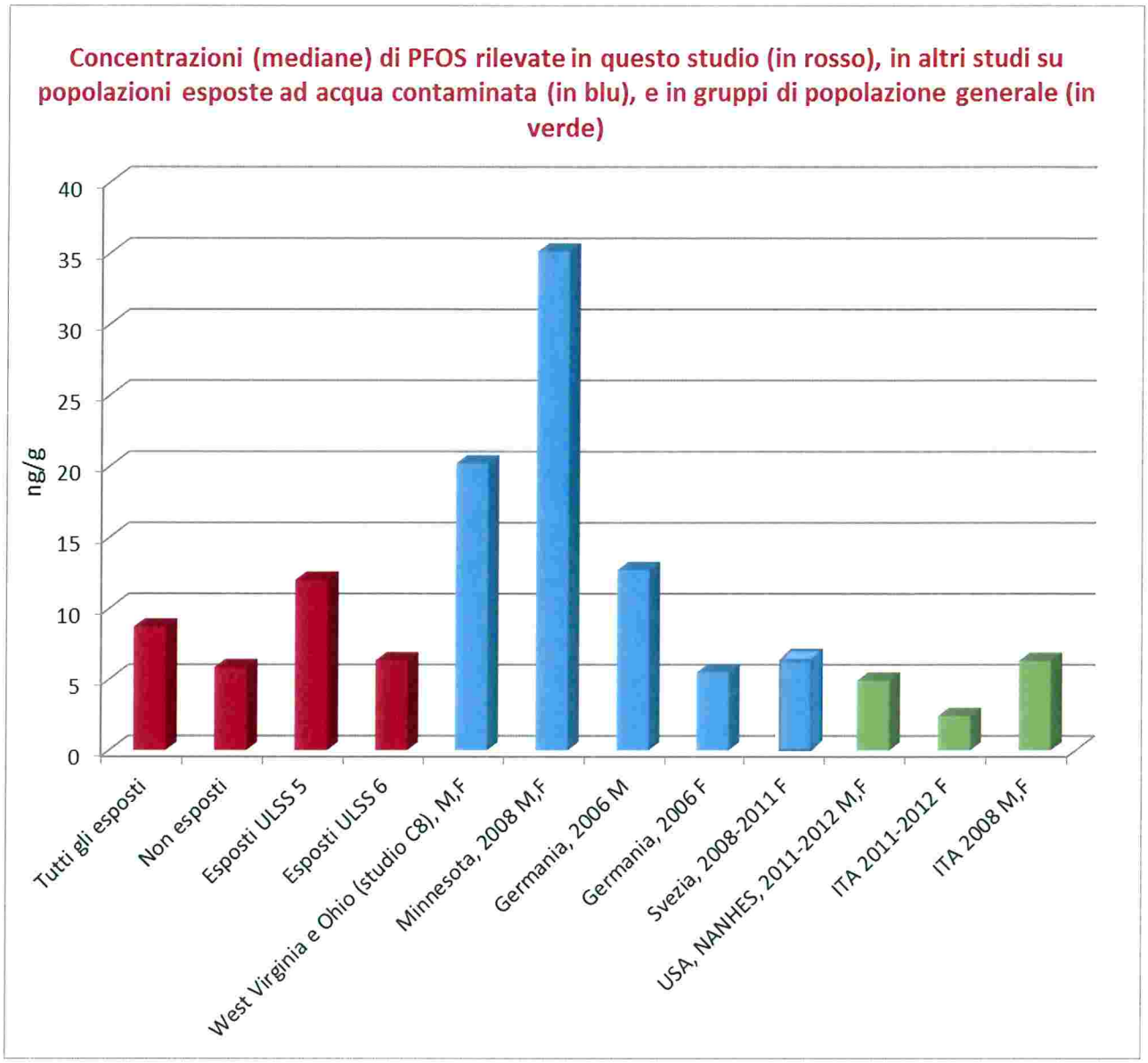
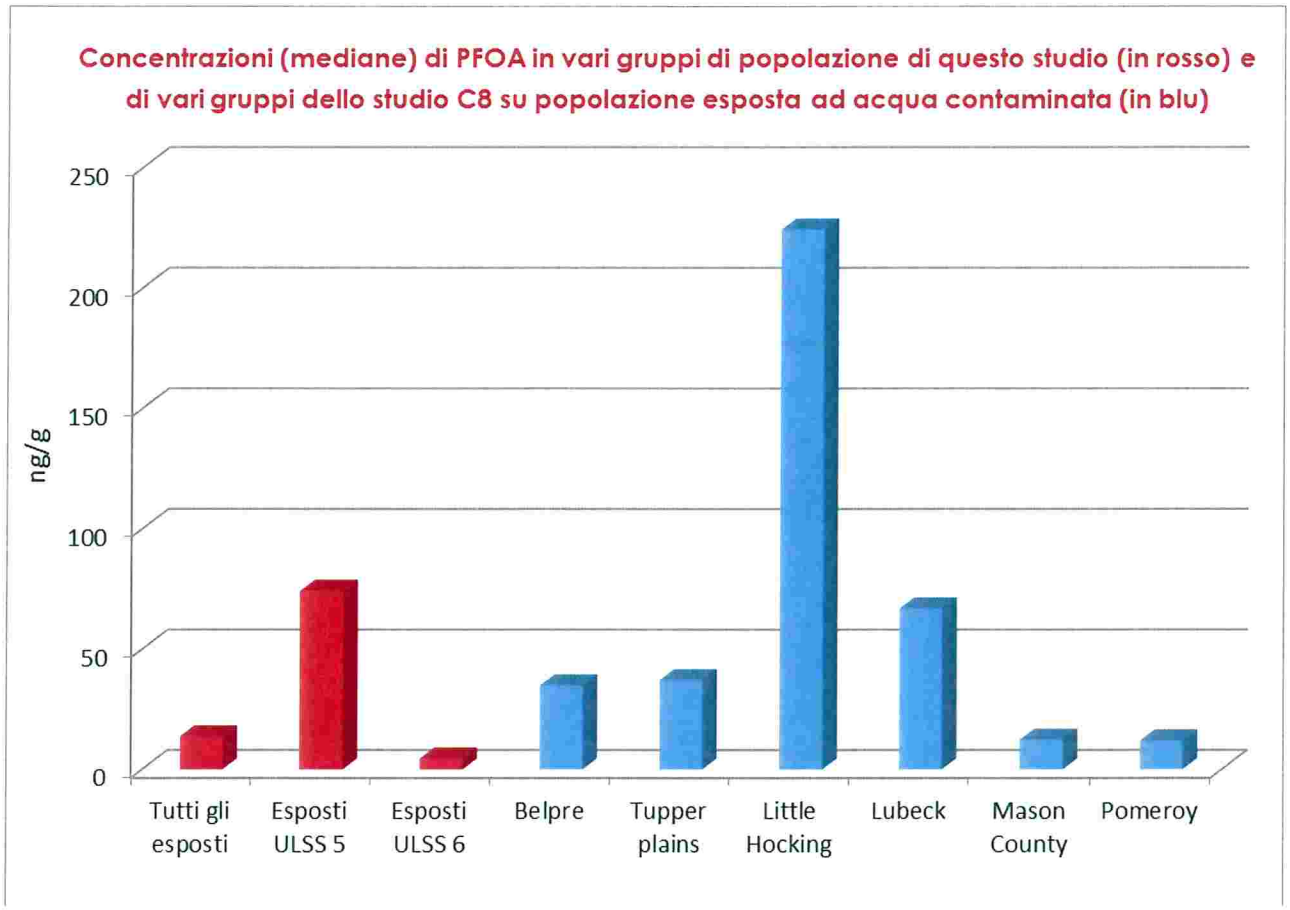

Concentrazioni (mediane) di PFOS rilevate in questo studio (in rosso), in altri studi su popolazioni esposte ad acqua contaminata (in blu), e in gruppi di popolazione generale (in verde)
ng/g
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Tutti gli esposti
Non esposti
Esposti ULSS 5
Esposti ULSS 6
West Virginia e Ohio (studio C8), M,F
Minnesota, 2008 M,F
Germania, 2006 M
Germania, 2006 F
Svezia, 2008-2011 F
USA, NANHES, 2011-2012 M,F
ITA 2011-2012 F
ITA 2008 M,F

Figura 3


Concentrazioni (mediane) di PFOA in vari gruppi di popolazione di questo studio (in rosso) e di vari gruppi dello studio C8 su popolazione esposta ad acqua contaminata (in blu)
ng/g
250
200
150
100
50
0
Tutti gli esposti
Esposti ULSS 5
Esposti ULSS 6
Belpre
Tupper plains
Little Hocking
Lubeck
Mason County
Pomeroy

Riferimenti degli studi citati

Brede E., Wilhelm M., Göen T., Müller J., Rauchfuss K., Kraft M., Hölzer J. (2010) Two-year follow-up biomonitoring pilot study of residents' and controls' PFC plasma levels after PFOA reduction in public water system in Arnsberg, Germany. International Journal of Hygiene and Environmental Health 213, 217–223.

De Felip E., Abballe A., Albano F.L., Battista T., Carraro V., Conversano M., Franchini S., Giambanco L., Iacovella N., Ingelido A.M., Maiorana A., Maneschi F., Marra V., Mercurio A., Nale R., Nucci B., Panella V., Pirola F., Porpora M.G., Procopio E., Suma N., Valentini S., Valsenti L., Vecchiè V. (2015) Current exposure of Italian women of reproductive age to PFOS and PFOA: A human biomonitoring study. Chemosphere 137, 1–8.

Frisbee S.J., Brooks P., Maher A., Flensborg P., Arnold S., Fletcher T., Steenland K., Shankar A., Knox S., Pollard C., Halverson J.A., Vieira V.M., Jin Leyden K.M., Ducatman A.M. (2009). The C8 Health Project: Design, Methods, and Participants. Environmental Health Perspectives 117, 1873-1882.

Gyllenhammar I., Berger U., Sundström M., McCleaf P., Eurén K., Eriksson S., Ahlgren S., Lignell S., Aune M., Kotova N., Glynn A. (2015) Influence of contaminated drinking water on perfluoroalkyl acid levels in human serum – A case study from Uppsala, Sweden. Environmental Research 140 673–683.

Ingelido A.M., Marra V., Abballe A.; Valentini S.; Iacovella N., Barbieri P.G., Porpora M.G., di Domenico A., De Felip E. (2010). Perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoic acid exposures of the Italian general population. Chemosphere, 80(10), 1125-30.

Lewis R.C., Johns L.E., Meeker J.D. (2015) Serum Biomarkers of Exposure to Perfluoroalkyl Substances in Relation to Serum Testosterone and Measures of Thyroid Function among Adults and Adolescents from NHANES 2011–2012. Int. J. Environ. Res. Public Health, 12, 6098-6114.

Minnesota Department of Health's (MDH) 2011. East Metro PFC Biomonitoring Follow-up Project: December 2011 Report to the Community.