



Presidenza del Consiglio dei Ministri

*Comitato Nazionale per la Biosicurezza,
le Biotecnologie e le Scienze della Vita*



**INTERFERENTI ENDOCRINI, AMBIENTE E
MALATTIE DELL'UOMO**

5 dicembre 2016

INDICE

Premessa	3
Introduzione.....	4
Interferenti endocrini e cancro tiroideo.....	9
Interferenti endocrini e tumori ipofisari.....	11
Interferenti endocrini ed obesità.....	12
Interferenti endocrini e fertilità.....	15
Interferenti endocrini e malattie immunitarie e autoimmunitarie.....	21
Bibliografia.....	25

Premessa

Il presente documento nasce dalla consapevolezza, da parte dei membri del Comitato Nazionale di Biosicurezza, Biotecnologie e Scienze della Vita, della sempre maggiore diffusione nell'ambiente di sostanze definite contaminanti ambientali, con particolare riferimento agli Interferenti Endocrini (Endocrine Disruptors), che causano un inquinamento del suolo, delle acque, dell'aria, del territorio. La presenza di tali sostanze, che coinvolge anche la catena alimentare, può rappresentare un rischio per la salute dei cittadini ed è, quindi, un problema di Sanità pubblica e di prevenzione.

Il Comitato ha avvertito, quindi, l'esigenza di approfondire tale ambito, attraverso una discussione interna ed anche confrontandosi con Esperti del settore esterni, in quanto argomento inerente in particolare le tematiche della Biosicurezza, da tale discussione nasce questo primo documento che può rappresentare una base di riflessione ed una descrizione aggiornata della problematica in esame per le necessità del Comitato, ma anche dei suoi Interlocutori Istituzionali esterni.

Alla redazione del documento hanno collaborato la Prof.ssa Anna Maria Colao, Il Prof. Andrea Isidori e la Prof.ssa Silvia Migliaccio, esperti della Società Italiana di Endocrinologia che sono stati ascoltati in audizione nella Plenaria nella seduta del 3 ottobre 2016.

Il Comitato ha approvato il documento in data 5 dicembre 2016.

Introduzione

La tradizione ippocratica enfatizza le cause ambientali di malattia e la necessità di armonia tra l'individuo e l'ambiente naturale come giusta filosofia per mantenere un ottimale stato di salute. Vi è oggi una notevole consapevolezza della popolazione sull'inquinamento ambientale e sull'aumentato rischio di cancro; tuttavia poco ancora è percepito dalla popolazione sulla relazione tra notevoli altre patologie frequenti, l'ambiente e le sue modifiche, intendendo per ambiente anche lo stile di vita personale. Il dato positivo è che stiamo assistendo ad un incremento costante di studi scientifici accurati che tendono a chiarire i meccanismi alla base fisiopatologica di molte patologie croniche non trasmissibili ed inquinanti ambientali (non solo relativi al rischio di cancro), benché ancora moltissimo resta da chiarire (1).

Gli interferenti endocrini (EDC) costituiscono una vasta categoria di sostanze o miscele di sostanze, che alterano la funzione del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie. Essi sono in grado di legarsi come agonisti o antagonisti ai recettori di vari ormoni, ad esempio ai recettori degli ormoni steroidei o degli ormoni tiroidei, o eventualmente interferire in vario modo e tramite differenti meccanismi, con sintesi, secrezione, trasporto, legame, azione, ed eliminazione degli stessi negli organismi viventi. Fra queste sostanze si ricordano: **idrocarburi policiclici aromatici, benzene, diossina, ftalato, perfluorato, bisfenolo A (e octilfenolo e nonifenolo).**

Questi composti possono provocare gravi danni agli organismi esposti, spesso non immediatamente percepibili in quanto a dosi minime non esprimono effetti di tossicità acuta, e possono, nel caso di vaste esposizioni ambientali, produrre effetti a livello di popolazione con ripercussioni a livello ecologico. Queste interferenze possono provocare difetti alla nascita e altri disturbi dello sviluppo. In particolare, sono noti per causare difficoltà di apprendimento, grave disturbo da deficit di attenzione, problemi cognitivi e di sviluppo del cervello, deformazioni del corpo,

problemi di sviluppo sessuale, femminilizzazione del sesso maschile e androgenizzazione del sesso femminile.

Gli EDC sono indicati anche come agenti ad azione ormonale: alcune sostanze possono trovarsi come inquinanti ambientali, ad esempio molti alogenuri organici come i policlorobifenili (PCB) e simili molecole appartenenti alla classe ambientale degli inquinanti organici persistenti, come costituenti naturali di alcuni cibi, ad esempio i fitoestrogeni contenuti nella soia, oppure essere presenti come contaminanti, ad esempio il bisfenolo A (BPA) derivato dalle plastiche o diversi tipi di fitofarmaci. Una classe importante di interferenti appartiene a composti clorurati di varie classi, spesso veicolati in atmosfera su lunghe distanze, ed un'altra si riferisce a composti fenolici.

La trasmissione ambientale di questi composti è stata largamente studiata, indagando sia sul trasporto di alcuni composti stabili, come gli alogenuri organici, e sia sulla ricaduta degli stessi sulle zone più fredde dove la circolazione atmosferica globale li porta a ricondensarsi, con effetti biologici su diversi organismi (2).

Lo stato delle conoscenze e delle attività nel settore dei perturbatori endocrini è riassumibile nei seguenti punti:

A) Negli animali, i perturbatori endocrini possono agire sul sistema ormonale e compromettere la riproduzione: in alcuni casi è stato dimostrato un rapporto di causa ed effetto nella fauna selvatica e anche in animali di laboratorio; attualmente non è ancora stato dimostrato che i perturbatori endocrini presenti nell'ambiente possano compromettere la riproduzione negli animali selvatici.

B) Un aumento dei casi di disturbi riproduttivi, di alcuni tipi di cancro, di malattie metaboliche come l'obesità e il diabete, e le malattie cardiovascolari (1,3) è stato messo in relazione alla presenza di interferenti endocrini. Se i risultati appaiono coerenti con la tesi che accusa i perturbatori endocrini, nei fatti non è stato possibile documentare una relazione causale tra l'esposizione a una sostanza con attività endocrina e l'effetto sull'organismo umano (4).

C) Occorrono ulteriori ricerche per eseguire una valutazione completa dei rischi, in particolare per quel che concerne gli effetti tossici a bassa concentrazione e l'effetto cocktail.

D) Alcuni perturbatori endocrini noti sono già disciplinati dalla legislazione per motivi che esulano dalla loro attività ormonale (tossicità generale, cancerogenicità, tossicità riproduttiva) (5).

Per la loro complessa natura, l'esposizione agli EDC può esitare in numerosi fenotipi clinici: la comprensione dei meccanismi d'azione rappresenta un campo in costante evoluzione nell'ambito della ricerca. La notevole eterogeneità dei composti inclusi in questo novero contribuisce difatti ad ostacolare l'identificazione di un meccanismo d'azione comune. Se alcune sostanze presentano alcune caratteristiche simili – il peso molecolare, o la presenza di specifici gruppi altamente reattivi – nessuna caratteristica comune può essere individuata fra tutti gli interferenti endocrini, e pertanto la generalizzazione, o tanto meno la predizione, dell'esatto meccanismo di azione è impossibile. È tuttavia possibile suddividere l'intero panorama degli EDC in tre ampie categorie:

1) Agonisti degli ormoni, la cui assunzione comporta, direttamente o indirettamente, un fenomeno di attivazione recettoriale (iperstimolazione); fitoestrogeni e sostanze ad azione tireostimolante rientrano in questa categoria.

2) Antagonisti degli ormoni, capaci di interagire con recettori ormonali impedendone, direttamente o indirettamente, la loro fisiologica attivazione (inibizione); appartengono a questo gruppo, ad esempio, sostanze ad azione anti-estrogenica ed anti-androgenica.

3) Modificatori del metabolismo, capaci di interferire con la fisiologica secrezione ormonale endogena o con altre tappe della normale azione degli ormoni, incluso il loro trasporto nel sangue, pre-processamento intracellulare, o post-processamento e quindi la loro degradazione ed eliminazione. Possono essere incluse in questa categoria sostanze che stimolano il metabolismo epatico o capaci di chelare gli ormoni circolanti.

Nonostante significativi avanzamenti ottenuti in questo campo, la ricerca nel mondo degli EDC finora non ha portato a evidenze scientifiche inoppugnabili. Molte sostanze sono dotate di breve emivita, altre hanno pesi molecolari molto bassi, altre ancora agiscono mediante metaboliti; pertanto, l'identificazione di queste sostanze non è semplice e richiede oltre ad un'adeguata strumentazione anche un background clinico non indifferente. Inoltre, esiste il lecito dubbio che molti studi siano vittime di forti errori, sia derivanti dalle posizioni degli autori, sia frutto della fonte di finanziamento.

Le principali criticità che s'incontrano nello studio degli EDC sono:

1) Effetti ritardati. L'assunzione di EDC non comporta in molti casi effetti immediati. L'esposizione prima della pubertà, o durante la vita intrauterina, può ad esempio portare a significativi effetti sulla fertilità a distanza di molti anni. Le fondamenta di molte patologie dell'adulto potrebbero essere ricondotte all'esposizione ad interferenti endocrini durante la vita in utero. Effetti epigenetici, come nel caso della modulazione dell'espressione del DNA mediante metilazione, possono essere trasmessi da una generazione alla successiva, talora senza dare apparenti manifestazioni cliniche nei soggetti direttamente esposti. Il gap temporale può essere di 20-30 anni come documentato per alcune neoplasie (cancro della cervice uterina e del testicolo) o ancor superiore come postulato per alcune demenze.

2) Esposizione multipla. La maggior parte degli studi sugli interferenti endocrini mira ad identificare gli effetti e i meccanismi di azione di singole sostanze: tuttavia, considerata l'eterogenea natura degli EDC, è lecito ritenere che la loro distribuzione sia ubiquitaria e che l'esposizione contemporanea a più sostanze sia tutt'altro che teorica. Le possibili interazioni fra diverse sostanze sono largamente ignorate: è possibile che i meccanismi d'azione di più EDC siano additivi, o persino sinergici, portando a manifestazioni più eclatanti a fronte di una minore esposizione ai singoli componenti.

3) Dinamiche di dose-risposta. Le dinamiche di dose-risposta sono raramente lineari per gli interferenti endocrini: in molti casi, sono state evidenziate curve di risposta a forma di U o di U rovesciata, e in particolari periodi dello sviluppo è possibile che l'esposizione dia luogo a manifestazioni cliniche indipendentemente dalla dose. Le sostanze lipofile tendono ad accumularsi nel tessuto adiposo, portando ad un rilascio graduale nel tempo, e alla comparsa di manifestazioni cliniche anche dopo anni dal termine dell'esposizione. I metaboliti di molti EDC sono caratterizzati da una più spiccata attività biologica, o da una maggiore capacità di accumulo rispetto alle molecole native.

4) Misurazione degli effetti. L'estrema eterogeneità degli interferenti endocrini rende di difficile valutazione l'esatta stima degli effetti, anche in presenza di manifestazioni cliniche riconducibili ad essi. Inoltre, l'esposizione a basse dosi di EDC protratta nel tempo rende spesso difficile l'identificazione di un nesso causale tra gli agenti "colpevoli" e la clinica. Ogni soggetto presenta un unico pattern di esposizione ad EDC noti e ignoti, e le fisiologiche differenze in termini di metabolismo e composizione corporea contribuiscono ad alterarne l'emivita e gli effetti biologici. Le metodiche di tossicologia classica forniscono solo una rappresentazione molto parziale gli effetti degli EDC, così come molti degli studi su animali.

5) Limiti dei modelli traslazionali. I modelli animali sono comunemente usati per valutare in vivo gli effetti di alcune sostanze; tuttavia, è difficile fornire un'adeguata stima di quanto i risultati siano estrapolabili all'essere umano, se non altro per le dinamiche temporali. Peraltro, gli studi finalizzati a identificare gli effetti di singole sostanze difficilmente sono rappresentativi della realtà: la contemporanea esposizione ad una bassa concentrazione di numerosi agenti non è realizzabile in laboratorio. Inoltre, alcune sostanze potrebbero risultare inerti se studiate individualmente, e biologicamente attive in seguito alla presenza di altri agenti, o all'interno di matrici biologiche complesse come il sangue. I modelli animali, nonostante tutti questi limiti, rappresentano comunque il più affidabile metodo di studio per gli interferenti endocrini.

6) Dimorfismi clinici. Una analoga esposizione a una miscela di EDC può tradursi in manifestazioni cliniche di diversa entità in soggetti di genere maschile o femminile. Ad esempio, l'esposizione ad agenti ad azione estrogeno-simile può comportare telarca prematuro nelle donne, mentre negli uomini può portare a disgenesia gonadica. In parte, questo deriva dalle fisiologiche differenze in termini di interazione fra ormone e recettore; tuttavia, è anche ipotizzabile che la diversa manifestazione clinica possa essere frutto della diversa espressione degli enzimi coinvolti nel metabolismo degli interferenti endocrini. I dimorfismi saranno ancora diversi se l'individuo di sesso femminile si dovesse trovare in età pre-puberale, riproduttiva o menopausale.

In base alle considerazioni già fatte e alle preoccupazioni generate dagli EDC il Ministero dell'Ambiente ha redatto un Decalogo per il Cittadino.

L'Unione Europea ha selezionato 564 sostanze sospettate di essere interferenti endocrini. Di queste, 147 possono essere persistenti nell'ambiente o prodotte in grandi volumi; solo di 66 sostanze è stato provato che possano agire come interferenti endocrini (categoria 1) mentre di 52 c'è solo qualche prova che siano potenziali interferenti endocrini (categoria 2) (5).

In ultimo ma non meno rilevante, nella prospettiva di una medicina di genere, gli effetti acuti e cronici degli inquinanti ambientali e degli interferenti endocrini andrebbero studiati in popolazioni omogenee per età e sesso, evidenze ancora largamente mancanti.

Interferenti endocrini e cancro tiroideo

L'incidenza del cancro tiroideo sta progressivamente aumentando in tutto il mondo. In Italia, il tumore tiroideo rappresenta la quinta e la seconda neoplasia più frequente al di sotto dei 50 anni nel sesso maschile e femminile, rispettivamente (6). Questo

fenomeno è evidente non solo nei paesi occidentali (7) ma anche nei cosiddetti paesi emergenti (8). Inoltre, il *trend* di incremento non tende ad arrestarsi nemmeno in quei Paesi laddove la diagnostica ecografica viene utilizzata su ampia scala da diversi anni (9). Quest'insieme di dati suggerisce un possibile ruolo eziopatogenetico dell'inquinamento ambientale, anch'esso in progressivo aumento, nello sviluppo del cancro tiroideo. Peraltro, nonostante la profonda conoscenza delle mutazioni genetiche associate (10) i fattori causali responsabili di tale patologia sono ancora in gran parte ignoti. La funzione tiroidea è intrinsecamente correlata all'esposizione ambientale. La ghiandola necessita dello iodio esogeno, oligoelemento naturale, per sintetizzare gli ormoni tiroidei. Tuttavia, un'ampia gamma di molecole sintetiche (e.g. ftalati, diossine, alchifenoli) è in grado di influire sul funzionamento della ghiandola (11). Tali molecole fanno parte del gruppo eterogeneo di sostanze sintetiche dette interferenti endocrini, derivanti da attività umane e prevalentemente dall'attività industriale, le quali sono in grado di contaminare l'ambiente a lungo termine con elevata probabilità di entrare in contatto con gli esseri umani (12). L'azione interferente sulla funzione degli ormoni tiroidei può avvenire a diversi livelli: metabolismo (blocco della captazione intracellulare dello iodio e/o alterazione della sua organificazione); trasporto (alterazione del legame con le proteine plasmatiche e della captazione a livello dei tessuti periferici); attività trascrizionale (alterazione del legame con i recettori ed i loro cofattori) (13). L'evidenza scientifica circa l'associazione fra inquinamento ambientale e sviluppo di patologia tiroidea è ancora limitata. Fino ad oggi, esistono solo dati circa l'impatto dell'esposizione a determinate categorie di inquinanti sul profilo ormonale tiroideo e sullo sviluppo di tireopatia autoimmune (14). La conoscenza circa il probabile ruolo degli interferenti endocrini nello sviluppo del cancro tiroideo è invece ancora teorica e non supportata da sufficienti evidenze. L'ipotesi patogenetica più accreditata è che l'esposizione a sostanze tiroide-interferenti possa indurre trasformazione neoplastica dei tireociti attraverso la loro iperstimolazione causata dall'eccessiva produzione di TSH ipofisario, come conseguenza della inibita funzione ghiandolare (13). Tuttavia, lo *screening* genetico dei tumori tiroidei insorti in alcune aree altamente inquinate di

Cina ed Italia (15,16) ha evidenziato una prevalenza più alta rispetto a quanto atteso dell'evento mutazionale BRAF^{V600E}, suggerendo una potenziale azione mutagena diretta degli inquinanti ambientali (17). Gli studi epidemiologici di associazione fra esposizione ambientale e cancro tiroideo sono pochi e quasi tutti di tipo occupazionale. Fra gli altri, uno studio svedese e uno cinese hanno dimostrato una incidenza significativamente più alta di cancro tiroideo in categorie di lavoratori (industrie di scarpe e settore tessile, rispettivamente) esposte a miscele di sostanze chimiche (18), suggerendo un legame fra contaminazione chimica e sviluppo della patologia. Tuttavia, dati epidemiologici focalizzati su una singola categoria di inquinanti non sono disponibili. Ad oggi, le uniche evidenze sperimentali circa il possibile ruolo degli interferenti endocrini nella cancerogenesi tiroidea derivano da studi su animali esposti ad alte dosi (19), mentre non vi sono dati circa l'eventuale effetto tumorigenico dell'esposizione a basse dosi, che rappresenta il modello tipico dell'essere umano esposto ad inquinamento ambientale.

Interferenti endocrini e tumori ipofisari

Il ruolo dell'ambiente nella patogenesi dell'acromegalia è stata suggerita da pochi studi epidemiologici su piccola scala. Lo studio di Cannavò et al. (20) ha valutato la prevalenza dell'acromegalia in 4 aree della provincia di Messina: area A (area ionica), area B (area tirrenica), area C (città di Messina) e area D (5 città della provincia di Messina ad elevata densità industriale). Il rischio calcolato in ogni area, assumendo l'area A come controllo, mostrava che la popolazione residente nell'area industrializzata (D), aveva un rischio maggiore rispetto alle altre aree di sviluppare acromegalia. L'ARPA ha identificato nell'area D i seguenti inquinanti atmosferici: idrocarburi non metanici, benzene, toluene, 1-3-butadiene, trans-2-pentene, 1-2-3-tribenzene, cis-2-butadiene, trans-2-butene, 2-methyl-1-pentene, acetylene, α -pinene, β -pinene, cyclohexene, ethane, isobutene, isopentane, isopropilbenzene, met-cyclopentano, m-xylene, n-decane, n-nonane, p-dietil-benzene, o-ethyltoluene, n-pentano e n-octano.

Pesatori et al. (21) hanno effettuato uno studio volto a valutare l'incidenza di tumori ipofisari sporadici nella zona di Seveso, nota per l'incidente avvenuto nell'azienda ICMESA di Meda, che causò la fuoriuscita e la dispersione di una nube della diossina TCDD. L'incidenza di tumori ipofisari sporadici era stata valutata in 3 aree di Seveso, a bassa, media ed elevata esposizione alla diossina, non trovando differenze significative. Il *pathway* del recettore dell'aril-idrocarbonio sembrerebbe essere il nesso tra tumori ipofisari ed ambiente. Il più potente ligando del recettore dell'aril-idrocarbonio è la 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-diossina (TCDD). Tra gli altri ligandi si annoverano più di 400 composti esogeni tra cui gli idrocarburi policiclici aromatici come il benzo[a]pirene e i PBC (22). La presenza di varianti genetiche che interferiscono con il funzionamento della via di segnale del recettore dell'aril-idrocarbonio in pazienti acromegalici che vivono in aree con elevato inquinamento si associa con maggiori dimensioni dell'adenoma e con resistenza al trattamento con analoghi della somatostatina (23).

Interferenti endocrini ed obesità

Gli interferenti endocrini sono sostanze in grado di alterare l'omeostasi endocrino-metabolica per la loro capacità di mimare e/o antagonizzare l'attività biologica di ormoni fisiologicamente prodotti dall'organismo. Nel corso degli anni è stato affrontato il concetto di "contaminante" ed è stata universalmente accolta la seguente definizione del *Codex Alimentarius*: *“qualsiasi sostanza non intenzionalmente aggiunta all'alimento, ma che sia presente in esso come risultato del processo produttivo e dei processi di fabbricazione, trasformazione, preparazione, trattamento, imballaggio, trasporto o conservazione di tale alimento, o in seguito alla contaminazione ambientale.”*

Risulta chiaro che gli interferenti endocrini possono rientrare nella catena alimentare con diverse modalità. Le particolari caratteristiche chimiche di questi composti permettono di interferire con i normali processi intracellulari di trasmissione del segnale, che possono quindi svolgere un ruolo importante non solo nell'induzione

della cancerogenesi ma anche nell'eziopatogenesi delle malattie del sistema endocrino-metabolico (24).

Altra peculiarità di questi composti, che li differenzia da altri agenti tossici e sostanze chimiche ambientali, è rappresentata dal fatto che gli effetti degli interferenti endocrini sono spesso indotti a piccole dosi e variano in base allo specifico periodo di esposizione.

Così, livelli apparentemente più bassi di esposizione esercitano spesso minimi cambiamenti a livello molecolare e cellulare, che possono però indurre più gravi effetti da un punto di vista fisiopatologico per una prolungata esposizione. Altro dato importante da ricordare è la potenziale persistenza di questi composti a livello del tessuto adiposo con il rischio di un effetto potenzialmente debole a livello dei tessuti bersaglio, ma persistente (25).

Gli effetti di queste sostanze sono spesso pleiotropici e l'esposizione agli interferenti endocrini è stato correlato ad infertilità, pubertà ritardata, parti prematuri, così come con sviluppo di diverse malattie quali malattie cardiovascolari, neoplasie, patologie scheletriche (1, 13, 26-29). Inoltre, negli ultimi anni molteplici studi hanno messo in evidenza potenziali correlazioni tra l'esposizione a interferenti endocrini ambientali e lo sviluppo di sindrome metabolica e diabete mellito tipo II, obesità (24,30). Negli ultimi decenni è stato descritto un drammatico aumento di questa patologia, non solo nella popolazione adulta, ma anche nell'infanzia e adolescenza (31).

L'obesità è una condizione clinica caratterizzata da un incremento del rischio di sviluppare patologie metaboliche croniche quali diabete mellito di tipo II, patologie cardiovascolari, aumento del rischio di sviluppare fratture, neoplasie. L'obesità è caratterizzata da un incremento della grandezza (obesità ipertrofica) o del numero degli adipociti (obesità iperplastica). Molteplici sono i fattori che svolgono un ruolo nell'eziopatogenesi della patologia, conseguente a complesse interazioni tra i fattori genetici, comportamentali e ambientali inclusi gli interferenti endocrini, inclusi tra i potenziali fattori coinvolti nello sviluppo di patologie metaboliche quali diabete mellito tipo II e obesità (32).

Bisfenolo A (BPA), tributiltina (TBT), dietilesilftalato (DEHP), nonilfenolo (alchilfenolo di sintesi), genisteina, ftalato, composti perfluoroalchilici (PFC), acido perfluorotetanoico (PFOA) sono tra i principali prodotti chimici che svolgono un'azione come interferenti endocrini obesogeni (33-36).

Gli obesogeni inducono alterazioni a livello ormonale interferendo con la normale funzione di ormoni (es., estrogeni, glucocorticoidi), fattori quali leptina, grelina, neuropeptide Y, nonché attraverso l'inibizione dell'enzima aromatasi o l'interferenza con l'espressione di recettori per gli ormoni steroidei, retinoico X, PPAR gamma, e glucocorticoidi (37,38). Inoltre recenti studi mostrano anche un effetto diretto di questi composti sul differenziamento adipocitario e l'induzione di un tessuto adiposo disfunzionale (39-41). In particolare, è stato dimostrato in modelli sperimentali come l'esposizione a basse dosi di BPA, ma cronicamente, in maniera analoga all'esposizione ambientale possa alterare il differenziamento adipocitario, aumentando la proliferazione dei preadipociti e anticipando l'espressione di geni coinvolti nel metabolismo glico-lipidico (40). Questa alterazione induce la formazione di adipociti ipertrofici con un'alterazione del segnale insulino-dipendente, con un incremento dell'espressione delle citochine proinfiammatorie. Il BPA è messo in relazione anche con la comparsa di sindrome dell'ovario policistico e diabete mellito di tipo 2, entrambe condizioni caratterizzate da insulino-resistenza (42-43).

Sulla base dei dati presenti in letteratura, si ritiene quindi che gli obesogeni possano predisporre gli individui ad aumento di peso a seguito dei meccanismi sopradescritti e per cambiamenti indotti nel “*set-point*” metabolico, in particolare se l'esposizione si verifica durante periodi particolarmente sensibili quali i primi anni di vita (24). Infatti anche se l'esposizione agli interferenti endocrini può avvenire durante tutte le fasi della vita (dal concepimento e lo sviluppo fetale sino alla senescenza), le alterazioni del sistema endocrino indotte dagli interferenti endocrini risultano, tuttavia, più critiche se l'esposizione avviene durante la vita prenatale e nel primo periodo di vita postnatale a causa dei rapidi cambiamenti presenti nella crescita dell'organismo.

Dati ottenuti in modelli sperimentali animali suggeriscono come un'esposizione a interferenti endocrini obesogeni possa indurre una riprogrammazione del differenziamento per alterazioni epigenomiche (29,44). In modelli cellulari sviluppati per lo studio del differenziamento adipogenico, sono stati identificati alcuni dei geni regolatori in grado di regolare efficacemente la proliferazione pre-adipocitaria e promuovere il differenziamento degli adipociti. Tra questi, la proliferazione del PPAR-gamma è di fondamentale importanza. L'attivazione di PPAR-gamma porta a cambiamenti nell'espressione genica che favoriscono il differenziamento degli adipociti e lo stoccaggio di energia. L'attivazione persistente del segnale PPAR-gamma-dipendente per un "sovraccarico" alimentare o per azione di interferenti endocrini che perturbano il sistema può rivelarsi obesogenico (37,45) svolgendo, quindi, un ruolo importante nell'eziopatogenesi dell'obesità ma anche del diabete mellito tipo 2.

Interferenti endocrini e fertilità

EDC e Sviluppo prenatale

In un primo momento, si pensava che gli EDC agissero solo attraverso i recettori ormonali nucleari come gli estrogeni, androgeni, progesterone, tiroide e recettori dei retinoidi. Tuttavia, recenti studi hanno dimostrato che il meccanismo di azione degli EDC non è così semplice. Gli interferenti endocrini esercitano effetti sul sistema endocrino e riproduttivo attraverso i recettori nucleari, i recettori degli ormoni steroidei non nucleari (i recettori degli estrogeni membrana), recettori non-steroidi (recettori per i neurotrasmettitori, come la serotonina, la dopamina, i recettori norepinefrina), recettori orfani (idrocarburi arile recettore), vie enzimatiche che coinvolgono la biosintesi di steroidi e/o il metabolismo, e numerosi altri meccanismi (46). Diversamente dagli adulti, i neonati e i bambini non sono esposti solo alle tossine chimiche presenti nell'ambiente, ma anche indirettamente nel corso della loro vita intrauterina, a quelle di provenienza materna che a loro volta possono essersi accumulate nella madre prima della gravidanza stessa. Centinaia di sostanze tossiche

possono influenzare direttamente il feto attraversando il cordone e la placenta. Tra queste si può annoverare un infinito numero di componenti chimici tossici neuro-immunitari ed endocrini che possono influenzare le fasi critiche di sviluppo ormonale, neurologico e immunologico. Gli EDC, data la loro struttura lipofila, sono in grado di attraversare facilmente le barriere biologiche come quella placentare e quella cerebrale e a tal proposito sono stati annoverati come “*poisons without passport*”. È stato dimostrato in studi su animali e umani che gli effetti di EDC sulla progenie non sono limitati ai discendenti nati con anomalie congenite o riduzione del QI, ma possono indurre a distanza di anni, anche nei nati sani, alterazioni comportamentali e di salute perduranti per tutta la durata di vita (47).

È stato ampiamente dimostrato che l'esposizione agli EDC in epoca prenatale può causare una serie di disturbi correlati ad anomalie sistematiche come (48):

- Disturbi della crescita con anomalie dello sviluppo cerebrale, del cuore, della mammella e degli organi sessuali (testicoli ritenuti, microfallo e fusione labiale);
- Disordini di sviluppo del sistema nervoso centrale;
- Disordini di sviluppo del sistema immunitario.

Tali disordini possono, altresì, dare origine, mediante effetti cumulativi, ad alterazioni e disfunzioni d'organo e di sistema più complessi compromettendo il cross talk immuno-neuro-endocrino (asse psico-neuro-immuno-endocrino).

Effetti sulla fertilità maschile

L'asse riproduttivo maschile può essere significativamente influenzato dall'assunzione di sostanze ad azione endocrino-simile sin dalla vita fetale (49). In particolare, le sostanze ad azione anti-androgenica sono state tra le prime a fornire una prova documentale degli effetti degli EDC e possono rappresentare un paradigma di studio. Dati clinici nell'uomo e nei modelli animali hanno identificato un'associazione fra interferenti endocrini e disordini dello sviluppo gonadico, collettivamente definiti “sindrome da disgenesia gonadica (testicular dysgenesis

syndrome, TDS)” e inclusivi di condizioni quali criptorchidismo, ipospadia, micropene, carcinoma “in situ” del testicolo, infertilità e predisposizione allo sviluppo di neoplasie testicolari (50). La TDS può essere ricondotta ad un’alterazione dello sviluppo embrionale delle cellule del Sertoli e del Leydig con conseguente alterazione del comparto germinale. Antiandrogeni, xenoestrogeni e diossine sono gli interferenti endocrini più analizzati nell’ambito della salute riproduttiva maschile, ma la lista delle sostanze che possono avere effetti sulla fertilità e sul tratto genito-urinario è in costante aumento. I risultati di una recente metanalisi suggeriscono come il ruolo dei singoli interferenti endocrini sia probabilmente minore di quanto supposto, mentre l’effetto “cocktail” derivante dall’esposizione di più agenti sia più verosimilmente causa di alterazioni significative (51).

Alcuni autori ritengono che la modifica (riduzione) dei caratteri sessuali secondari (androgenizzazione) della popolazione maschile dei paesi occidentali (in particolare dei giovani adulti), che si riflette in misurabili cambiamenti fenotipici (altezza, rapporto tra lunghezza degli arti e del tronco, peluria, numero totale di spermatozoi prodotti) sia attribuibile ad un fenomeno evoluzionistico (perdita del vantaggio riproduttivo), mentre altri autori ritengono sia ascrivibile ad una progressiva “estrogenizzazione” legata a fattori alimentari (additivi e fitoestrogeni) o inquinanti (EDC).

Anomalie del tratto genito-urinario

Il fisiologico sviluppo della gonade inizia precocemente durante l’embriogenesi: sotto lo stimolo del testosterone e dell’ormone anti-Mülleriano hanno rispettivamente luogo i processi che consentono la persistenza dei dotti mesonefrici e l’involutione dei dotti paramesonefrici. Gli ormoni endogeni sono anche coinvolti nello sviluppo dei genitali esterni (testosterone, DHT) e nella discesa delle gonadi nel sacco scrotale (INSL-3, insulin-like peptide 3). L’esposizione ad agenti con proprietà anti-androgene durante la vita fetale può portare a diversi fenotipi clinici, dall’ipospadia al criptorchidismo.

L'associazione fra l'esposizione parentale ai pesticidi e l'insorgenza di ipospadia nei neonati è stata messa in evidenza in prima metanalisi (52); ma alcuni studi più recenti non hanno confermato questi primi dati, mettendo in evidenza però un possibile legame con l'esposizione materna ai metalli pesanti o altri EDC diversi dai pesticidi (53). L'associazione con altri agenti, quali PCB e PBB, non è risultata statisticamente significativa negli studi condotti nell'uomo. Tuttavia, la scarsa numerosità campionaria dovuta alla rarità dell'ipospadia nella popolazione generale limita il potere statistico di questi studi (12). Studi su modelli animali hanno consentito di individuare alcuni interferenti endocrini capaci di causare ipospadia: alcuni agenti, come gli ftalati, agiscono inibendo la produzione di testosterone endogeno, mentre altri, come alcuni fungicidi e pesticidi, ostacolano il legame fra gli androgeni e il loro recettore. L'esposizione a più sostanze comporta effetti sinergistici che incrementano esponenzialmente il rischio di ipospadia (54).

L'osservazione che i tassi di criptorchidismo non differiscono significativamente fra gemelli mono ed eterozigoti ha permesso di ipotizzare un ruolo eziopatogenetico del milieu endocrino placentare. Elevate concentrazioni di pesticidi sono state riscontrate nel tessuto adiposo di soggetti criptorchidi e nel latte delle loro madri (55); dati meno conclusivi sono emersi nell'ambito della valutazione dei bifenili. Elevate concentrazioni di diossine nel latte materno sono state associate a un maggior rischio di criptorchidismo, ma non è emersa analoga associazione con i livelli placentari di queste sostanze (56). L'azione antiandrogena degli ftalati, risultante in una minore concentrazione di testosterone ed elevati livelli di LH, potrebbe giustificare l'associazione fra l'esposizione a questi composti ed un aumentato rischio di criptorchidismo (57).

Sia il criptorchidismo che l'ipospadia sono fattori di rischio riconosciuti per le neoplasie testicolari, in particolare per i tumori a cellule germinali (50). Gli studi negli umani non hanno mostrato più elevate concentrazioni di bifenili nei soggetti affetti da neoplasia: tuttavia, compatibilmente con un effetto transgenerazionale, le concentrazioni di questi interferenti endocrini nel siero delle madri di uomini affetti da tumori a cellule germinali sono risultate significativamente aumentate (58).

Tra gli altri EDC verosimilmente coinvolti nell'eziopatogenesi dei tumori testicolari, meritano menzione alcuni pesticidi come il DDT ed il suo metabolita diclorodifenildicloroetilene (DDE), che sebbene non in uso da oltre 40 anni sono ancora presenti nella catena alimentare e riscontrati nei tessuti di diversi animali (12).

Alterazioni della spermatogenesi

Negli ultimi decenni sono state pubblicate evidenze scientifiche contrastanti in merito ad un supposto declino della qualità dello sperma su scala globale. Fattori ambientali e l'esposizione ad EDC sono stati presi in considerazione dai sostenitori di questa teoria, mentre i detrattori di questa tesi hanno invocato errori nella selezione degli individui studiati e diversità metodologiche.

Dai modelli animali sono state ottenute prove sperimentali dell'effetto degli interferenti endocrini, sia nella vita adulta che nell'epoca dello sviluppo, sulla produzione dei gameti maschili: in particolare, a seguito dell'esposizione in utero, l'azione degli EDC sulla spermatogenesi si estrinseca sia direttamente che mediante effetti trans-generazionali.

Come ampiamente discusso altrove, gli effetti dell'esposizione agli EDC sono spesso osservabili solo dopo anni; studi trasversali condotti nell'uomo pertanto non consentono di ottenere inoppugnabili evidenze scientifiche della correlazione fra esposizione a uno o più EDC e un difetto di spermatogenesi. Dati controversi sono emersi in letteratura in merito alla relazione fra alterazioni seminali e l'esposizione in età adulta a pesticidi, PBC e tensioattivi: laddove alcuni studi hanno riscontrato effetti deleteri sulla qualità del liquido seminale nei soggetti esposti, altri hanno mostrato dati inconcludenti (5, 59-60). Viceversa, l'esposizione durante la vita intrauterina ad alcuni composti quali dietilstilbestrolo, PBC, dibenzofurano e diossine, sembra avere effetti inequivocabili su tutti i parametri seminali (61-62). Questi dati avvalorano l'ipotesi che gli effetti degli EDC sino esponenziali o dominanti sulla fertilità quando l'esposizione avviene durante la vita intrauterina e in particolare durante la morfogenesi gonadica (durante la fase di proliferazione delle cellule di Sertoli).

Effetti sulla fertilità femminile

Analogamente a quanto descritto nel maschio, anche l'asse riproduttivo femminile può risentire dell'esposizione a interferenti endocrini sin dalla vita fetale (49). Gli EDC possono interferire con gli organi coinvolti nella sfera riproduttiva, alterandone sia la struttura, sia la funzione. I dati della letteratura, tuttavia, non consentono di trarre conclusioni definitive: i meccanismi di azione non sono ancora del tutto noti, e allo stesso modo la lista dei potenziali interferenti endocrini cresce con una velocità preoccupante.

Alterazioni funzionali ovariche

Nei modelli animali, l'esposizione intrauterina al BPA, ai pesticidi e agli ftalati è stata associata allo sviluppo di un minor numero di follicoli primordiali (5, 63) a seguito di meccanismi epigenetici risultanti in alterazioni dell'espressione di geni coinvolti nella meiosi. Dopo la fine della vita fetale, l'esposizione alle stesse sostanze, particolarmente ad alte dosi, comporta una più accelerata transizione follicolare, con il reclutamento di numerosi follicoli primari, e successiva rapida atresia del follicolo (64) con associato calo della secrezione di estrogeni (65). Altri interferenti endocrini, come ad esempio i parabeni, alcuni fungicidi, il tributilstagno o i fitoestrogeni agiscono a vari livelli sulla follicologenesi, inducendo atresia, o diminuendo il numero di corpi lutei, e aumentando quello dei follicoli cistici (66-67). Nell'essere umano, i dati sperimentali sono quasi del tutto assenti e non consentono di giungere a conclusioni.

Alcuni interferenti endocrini possono compromettere la fisiologica produzione ormonale ovarica, sia direttamente, tramite effetti sulle cellule della granulosa o della teca, sia indirettamente, tramite il coinvolgimento di fattori necessari alla steroidogenesi (12). Alterazioni nelle concentrazioni dei principali ormoni sessuali possono tradursi in differenti fenotipi clinici, in considerazione della dose e del tempo di esposizione. Nei modelli murini, l'esposizione prenatale a basse dosi di BPA riduce la produzione di testosterone, estradiolo ed aromatasi, mentre ad alte dosi

gli effetti sono diametralmente opposti (68-69). Il meccanismo di “agonismo/antagonismo parziale” è responsabile della risposta a “U” di alcune sostanze: a bassa concentrazione competono con il ligando endogeno che è più efficiente nella traduzione del segnale, mentre ad alte concentrazioni saturano il recettore determinandone comunque un’attivazione. Dati meno conclusivi sono emersi negli studi nell’essere umano: gli studi *in vitro* hanno tuttavia permesso di ritenere con ragionevole sicurezza che anche gli ftalati e i pesticidi siano in grado di alterare la normale produzione ormonale (70-71). La possibilità di documentare questi effetti, tuttavia, richiede un’accurata sensibilità nella misurazione ormonale e la possibilità di valutare complessivamente tutto il profilo steroidogenico, per esempio utilizzando la cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa in tandem (LC-MS/MS).

Fertilità, gravidanza e menopausa

Come descritto, l’esposizione agli interferenti endocrini sulla steroidogenesi e sulla gametogenesi si traduce in fenotipi clinici di varia entità. La fertilità può essere compromessa in conseguenza di squilibri ormonali o di disturbi morfo-funzionali del follicolo; tuttavia, ulteriori meccanismi sembrano essere implicati nelle alterazioni della fertilità femminile. Ad esempio, concentrazioni urinarie di BPA sono state associate a maggiori possibilità di fallimento delle tecniche di fecondazione assistita (72), e concentrazioni plasmatiche significativamente più elevate sono state osservate nelle donne infertili rispetto ai controlli (73). L’esposizione al BPA sembra inoltre essere associata a un più rapido esaurimento della riserva follicolare. Dati non conclusivi sono emersi in merito al possibile ruolo degli ftalati o dei pesticidi sulla fertilità femminile, sebbene sia stata documentata anche nell’uomo un’associazione fra elevate concentrazioni di queste sostanze ed una più precoce menopausa (74).

Interferenti endocrini e malattie immunitarie e autoimmunitarie

Alterazioni del sistema immunitario come ipersensibilità, autoimmunità e immuno-modulazione possono indurre un peggioramento nella qualità della vita. Recenti studi mostrano che molte sostanze chimiche introdotte nell'ambiente hanno la capacità di interferire con il sistema immunitario negli esseri umani. Le conseguenze di tali interferenze sul sistema immunitario in un organismo in via di sviluppo non sono ancora del tutto delucidate. Ciò nonostante, ci sono alcune situazioni in cui le alterazioni immunitarie possono essere riconosciute come il prodotto di sostanze chimiche identificate come immuno-tossiche.

Le malattie allergiche costituiscono la più comune causa di malattia cronica nei paesi sviluppati e la cui incidenza è in aumento nei paesi in via di sviluppo. Dati clinici ed evidenze scientifiche suggeriscono che l'incidenza di allergia nell'infanzia può essere collegata ad aspetti ambientali correlati con disordini dell'asse ipotalamo ipofisario (HPA). È possibile che inibizioni o attivazioni dell'asse durante lo sviluppo embrionale e nei primi anni di vita possano contribuire allo sviluppo delle risposte allergiche (75).

Le malattie autoimmuni, anch'esse in forte aumento, rappresentano il secondo evento causale maggiormente indotto da EDC. Ad oggi sono state identificate più di 80 malattie autoimmuni sistemiche e organo-specifiche, e il loro carico cumulativo è sostanziale, sia medicalmente che finanziariamente. Nei paesi in sviluppo, in tutto il mondo, dal 5 al 7% della popolazione ne è affetta e il costo sociale è in continuo aumento. Ciò rende queste malattie un fenomeno globale onnipresente con un aumento previsto nei prossimi decenni. L'aumento più evidente del tasso di prevalenza delle malattie autoimmuni è dato dai nuovi casi di diabete mellito di tipo 1. Dati provenienti da 17 paesi europei mostrano un incremento medio del 3.9% (1989-2003) con la previsione che tale percentuale raddoppierà entro il 2020 rispetto al 2005 (76). Bisogna ricordare che esiste un binomio tra la genetica (predisposizione

intrinseca allo sviluppo di patologie) e il rischio di insorgenza di malattie autoimmunitarie e l'ambiente (77). Per esempio, è quattro volte più probabile che il lupus eritematoso sistemico colpisca le persone di discendenza africana che vivono a Londra rispetto a quelle che vivono nell'Africa sub-sahariana. Tuttavia le prove dirette tra i collegamenti ambiente-malattia sono deboli per lo più a causa delle limitazioni intrinseche dell'epidemiologia ambientale (78). Inoltre l'esposizione umana agli ftalati è ampia, ma gli studi sono spesso limitati dalla difficoltà di classificazione delle malattie e dalla potenza statistica.

Molti disturbi del sistema immunitario sono profondamente radicati nel sistema endocrino in quanto l'attivazione o l'inattivazione inappropriata di percorsi endocrini è in grado di disturbare l'equilibrio della risposta immunitaria in maniera aberrante: ciò è dovuto al fatto che il sistema endocrino e il sistema immunitario sono intrinsecamente collegati per assicurare al corpo la gestione simultanea di infezioni, stress e riproduzione (79).

Come già trattato nei paragrafi precedenti, tra i tossici, gli EDC sono stati direttamente collegati con i disturbi del metabolismo, del bilancio energetico, della funzione tiroidea e della riproduzione, così come in un aumentato rischio di tumori endocrini (80).

Numerose sono le evidenze scientifiche che dimostrano come gli interferenti endocrini siano implicati nello sviluppo di malattie autoimmunitarie.

Le malattie autoimmuni della tiroide sono le più frequenti malattie autoimmunitarie organo-specifiche; si stima che circa il 5% della popolazione ne è affetta (81).

La malattia è causata dalla alterata interazione tra i tireociti (le cellule unità funzionali della tiroide) ed il sistema immunitario (linfociti T), con il risultato finale in una reazione autoimmunitaria che esita nell'attacco da parte del sistema immunitario dell'organo. Notevoli evidenze scientifiche dimostrano che gli EDC sono in grado di influenzare l'eziologia di questa malattia, forse modificando la normale interazione immuno-endocrina ed indirizzare su un pattern autoimmune (5, 82).

EDC e l'endometriosi

L'endometriosi è la causa più frequente di dolore pelvico ed infertilità femminile e le citochine e i fattori di crescita sono stati indicati come agenti favorenti (83). Numerosi sono gli studi clinici che dimostrano una correlazione diretta tra concentrazioni plasmatiche di ftalati e dei suoi esteri (agenti plastificanti) con la presenza di endometriosi (84). Anche le diossine sono state associate con la presenza di endometriosi (85-86). Composti diossino-simili e PCB (miscele di sintesi utilizzate come vernici, resine, materie plastiche, inchiostro di stampa e colle) sono stati trovati elevati nel sangue di donne con endometriosi (87-88). Dati raccolti dall'esposizione accidentale a diossine dopo un incidente industriale a Seveso, in Italia, ha rivelato un aumento del rischio di endometriosi (89). Nonostante le prova che correlano gli EDC presenti nel sangue di donne con endometriosi, i dati che suggeriscono un meccanismo, o che stabiliscono nessi causali, sono scarsi. Recentemente è stata messa in evidenza l'azione di queste sostanze sul recettore arilico, producendo pertanto nuove linee di ricerca.

Bibliografia

1. Colao A, Muscogiuri G, Piscitelli P. Environment and Health: Not Only Cancer. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 Jul 19;13(7).
2. Panzica GC, Viglietti-Panzica C, Mura E, Quinn MJ, Lavoie E, Palanza P, Ottinger MA. Effects of xenoestrogens on the differentiation of behaviorally- relevant neural circuits. *Front Neuroendocrinol* 2007; 28: 179-200
3. Muscogiuri G, Colao A. Phtalates: new cardiovascular health disruptors? *Arch Toxicol*. 2016 Jun 29. [Epub ahead of print]
4. Gore AC. Developmental programming and endocrine disruptor effects on reproductive neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol*. 2008; 29:358-374
5. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT, Gore AC. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*. 2009; 30:293-342.
6. AIOM-AIRTUM: I numeri del cancro in Italia 2016. 2016.
7. Davies L, Welch H.G.. Current thyroid cancer trends in the United States. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2014;140:, 317-322.
8. Oh CM, Jung KW, Won YJ, Shin A, Kong HJ, Lee JS. Age-Period-Cohort Analysis of Thyroid Cancer Incidence in Korea. *Cancer Res Treat* 2015; 47:, 362-369.
9. Howlader N, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009 (Vintage 2009 Populations). 2012.
10. Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 184-199.
11. Gutleb AC, Cambier S, Serchi T. Impact of Endocrine Disruptors on the Thyroid Hormone System. *Horm Res Paediatr* 2016.
12. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, et al. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr Rev*. 2015;36(6):E1-E150
13. Maqbool F, Mostafalou S, Bahadar H, Abdollahi M. Review of endocrine disorders associated with environmental toxicants and possible involved mechanisms. *Life Sci*. 2016; 145:265-73.
14. Duntas LH, Stathatos N. Toxic chemicals and thyroid function: hard facts and lateral thinking. *Rev Endocr Metab Disord* 2015;16:, 311-318.
15. Guan H, Ji M, Bao R, Yu H, et al. Association of high iodine intake with the T1799A BRAF mutation in papillary thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:, 1612-1617.
16. Pellegriti G, De Vathaire F, Scollo C, et al. Papillary thyroid cancer incidence in the volcanic area of Sicily. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1575-1583.
17. Marcello MA, Malandrino P, et al. The influence of the environment on the development of thyroid tumors: a new appraisal. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21: T235-254.
18. Leux C, Guenel P. Risk factors of thyroid tumors: role of environmental and occupational exposures to chemical pollutants. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2010; 58: 359-367.
19. Zaidi SS, Bhatnagar VK, Gandhi SJ, et al. Assessment of thyroid function in pesticide formulators. *Hum Exp Toxicol* 2000; 19, 497-501.
20. Cannavò S, Ferrà F, Ragonese M, Curtò L, Torre ML, Magistri M, Marchese A, Alibrandi A, Trimarchi F. Increased prevalence of acromegaly in a highly polluted area. *Eur J Endocrinol*. 2010; 163: 509-13.
21. Pesatori AC, Baccarelli A, Consonni D, et al. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein and pituitary adenomas: a population-based study on subjects exposed to dioxin after the Seveso, Italy, accident. *Eur J Endocrinol*. 2008; 159: 699-703.
22. Denison MS, Pandini A, Nagy SR, Baldwin EP, Bonati L. Ligand binding and activation of the Ah receptor. *Chem Biol Interact*. 2002; 141: 3-24.
23. Cannavò S, Ragonese M, Puglisi S, et al. Acromegaly Is More Severe in Patients With AHR or AIP Gene Variants Living in Highly Polluted Areas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101: 1872-1979.
24. Heindel JJ, Newbold R, Schug TT. Endocrine disruptors and obesity. *Nat Rev Endocrinol*. 2015 ; 11: 653-61.

25. Cheikh Rouhou M, Karelis AD, St-Pierre DH, Lamontagne L. Adverse effects of weight loss: Are persistent organic pollutants a potential culprit? *Diabetes Metab.* 2016; 42(4):215-23.
26. Migliaccio S, Newbold RR, McLachlan JA, Korach KS. Alterations in estrogen levels during development affects the skeleton: use of an animal model. *Environ Health Persp* 1995; 103:97-99.
27. Soto AM, Sonnenschein C. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol* 2010; 6:363-370.
28. Paoli D, Giannandrea F, Gallo M, Turci R, Cattaruzza MS, Lombardo F, Lenzi A, Gandini L. Exposure to polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene, semen quality and testicular cancer risk. *J Endocrinol Invest.* 2015; 38(7):745-52
29. Prusinski L, Al-Hendy A, Yang Q. Developmental exposure to endocrine disrupting chemicals alters the epigenome: Identification of reprogrammed targets. *Gynecol Obstet Res.* 2016; 3(1):1-6.
30. Grün F, Blumberg B. Perturbed nuclear receptor signaling by environmental obesogens as emerging factors in the obesity crisis. *Rev Endocr Metab Disord.* 2007; 8(2):161-71.
31. Migliaccio S, Greco EA, Wannenes F, Donini LM, Lenzi A. Adipose, bone and muscle tissues as new endocrine organs: role of reciprocal regulation for osteoporosis and obesity development. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2014;17(1):39-51.
32. Lubrano C, Genovesi G, Specchia P, Costantini D, Mariani S, Petrangeli E, Lenzi A, Gnessi L. Obesity and metabolic comorbidities: environmental diseases? *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:640673.
33. Nelson JW, Hatch EE, Webster TF. Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and cholesterol, body weight, and insulin resistance in the general U.S. population. *Environ Health Perspect.* 2010; 118(2):197-202.
34. Kelishadi R, Poursafa P, Jamshidi F. Role of environmental chemicals in obesity: a systematic review on the current evidence. *J Environ Public Health* 2013;2013:896789
35. Regnier SM, El-Hashani E, Kamau W, Zhang X, Massad NL, Sargis RM. Tributyltin differentially promotes development of a phenotypically distinct adipocyte. *Obesity (Silver Spring).* 2015;23(9):1864-71.
36. Zuo Z, Chen S, Wu T. Tributyltin causes obesity and hepatic steatosis in male mice. *Environ Toxicol* 2011; 26:79-85.
37. Harada S, Hiromori Y, Nakamura S, et al. Structural basis for PPAR γ transactivation by endocrine-disrupting organotin compounds. *Sci Rep* 2015; 5:8520.
38. Janesick AS, Blumberg B. Obesogens: an emerging threat to public health. *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 214(5):559-65.
39. Masuno H, Iwanami J, Kidani T, Sakayama T, Honda K. Bisphenol a accelerates terminal differentiation of 3T3-L1 cells into adipocytes through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Toxicol. Sci.* 2005; 84 319-327.
40. Valentino R, D'Esposito V, Passaretti F, Liotti A, Cabaro S, Longo M, Perruolo G, Oriente F, Beguinot F, Formisano P. Bisphenol-A impairs insulin action and up-regulates inflammatory pathways in human subcutaneous adipocytes and 3T3-L1 cells. *PLoS One.* 2013; 8(12):e82099.
41. Ariemma F, D'Esposito V, Liguoro D, Oriente F, Cabaro S, Liotti A, Cimmino I, Longo M, Beguinot F, Formisano P, Valentino R. Low-Dose Bisphenol-A Impairs Adipogenesis and Generates Dysfunctional 3T3-L1 Adipocytes. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150762.
42. Tarantino G, Valentino R, Di Somma C, D'Esposito V, Passaretti F, Pizza G, Brancato V, Orio F, Formisano P, Colao A, Savastano S. Bisphenol A in polycystic ovary syndrome and its association with liver-spleen axis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013 Mar;78(3):447-53.
43. Provvvisiero DP, Pivonello C, Muscogiuri G, Negri M, de Angelis C, Simeoli C, Pivonello R, Colao A. Influence of Bisphenol A on Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Environ Res Public Health.* 2016 Oct 6;13(10).
44. Chamorro-García R, Sahu M, Abbey RJ, Laude J, Pham N, Blumberg B. Transgenerational inheritance of increased fat depot size, stem cell reprogramming, and hepatic steatosis elicited by prenatal exposure to the obesogen tributyltin in mice. *Environ Health Perspect.* 2013;121(3):359-66.

45. Biemann R, Navarrete Santos A, Navarrete Santos A, Riemann D, Knelangen J, Blüher M, Koch H, Fischer B. Endocrine disrupting chemicals affect the adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells in distinct ontogenetic windows. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;417(2):747-52.
46. Phillips KP, Foster WG. Key developments in endocrine disrupter research and human health. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2008;11(3-4):322-344.
47. Crinnin WJ. Maternal levels of xenobiotics that affect fetal development and childhood health. *Altern Med Rev.* 2009;14(3):212-222.
48. Unuvar T, Buyukgebiz A. Fetal and neonatal endocrine disruptors. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012;4(2):51-60.
49. Abaci A, Demir K, Bober E, Buyukgebiz A. Endocrine disrupters - with special emphasis on sexual development. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2009;6(4):464-475.
50. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod.* 2001;16(5):972-978.
51. Bonde JP, Flachs EM, Rimborg S, et al. The epidemiologic evidence linking prenatal and postnatal exposure to endocrine disrupting chemicals with male reproductive disorders: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2016.
52. Rocheleau CM, Romitti PA, Dennis LK. Pesticides and hypospadias: a meta-analysis. *J Pediatr Urol.* 2009;5(1):17-24.
53. Nassar N, Abeywardana P, Barker A, Bower C. Parental occupational exposure to potential endocrine disrupting chemicals and risk of hypospadias in infants. *Occup Environ Med.* 2010;67(9):585-589.
54. Hass U, Scholze M, Christiansen S, et al. Combined exposure to anti-androgens exacerbates disruption of sexual differentiation in the rat. *Environ Health Perspect.* 2007;115 Suppl 1:122-128.
55. Hosie S, Loff S, Witt K, Niessen K, Waag KL. Is there a correlation between organochlorine compounds and undescended testes? *Eur J Pediatr Surg.* 2000;10(5):304-309.
56. Krysiak-Baltyn K, Toppari J, Skakkebaek NE, et al. Association between chemical pattern in breast milk and congenital cryptorchidism: modelling of complex human exposures. *Int J Androl.* 2012;35(3):294-302.
57. Swan SH. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res.* 2008;108(2):177-184.
58. Hardell L, Bavel B, Lindstrom G, Eriksson M, Carlberg M. In utero exposure to persistent organic pollutants in relation to testicular cancer risk. *Int J Androl.* 2006;29(1):228-234.
59. Vested A, Giwercman A, Bonde JP, Toft G. Persistent organic pollutants and male reproductive health. *Asian J Androl.* 2014;16(1):71-80.
60. Specht IO, Hougaard KS, Spano M, et al. Sperm DNA integrity in relation to exposure to environmental perfluoroalkyl substances - a study of spouses of pregnant women in three geographical regions. *Reprod Toxicol.* 2012;33(4):577-583.
61. Mocarelli P, Gerthoux PM, Needham LL, et al. Perinatal exposure to low doses of dioxin can permanently impair human semen quality. *Environ Health Perspect.* 2011;119(5):713-718.
62. Guo YL, Hsu PC, Hsu CC, Lambert GH. Semen quality after prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Lancet.* 2000;356(9237):1240-1241.
63. Santangeli S, Maradonna F, Olivotto I, Piccinetti CC, Gioacchini G, Carnevali O. Effects of BPA on female reproductive function: The involvement of epigenetic mechanism. *Gen Comp Endocrinol.* 2016.
64. Li Y, Zhang W, Liu J, et al. Prepubertal bisphenol A exposure interferes with ovarian follicle development and its relevant gene expression. *Reprod Toxicol.* 2014;44:33-40.
65. Craig ZR, Hannon PR, Wang W, Ziv-Gal A, Flaws JA. Di-n-butyl phthalate disrupts the expression of genes involved in cell cycle and apoptotic pathways in mouse ovarian antral follicles. *Biol Reprod.* 2013;88(1):23.
66. Jefferson WN. Adult ovarian function can be affected by high levels of soy. *J Nutr.* 2010;140(12):2322S-2325S.

67. Lee H, Lim S, Yun S, Yoon A, Park G, Yang H. Tributyltin increases the expression of apoptosis- and adipogenesis-related genes in rat ovaries. *Clin Exp Reprod Med.* 2012;39(1):15-21.
68. Delclos KB, Camacho L, Lewis SM, et al. Toxicity evaluation of bisphenol A administered by gavage to Sprague Dawley rats from gestation day 6 through postnatal day 90. *Toxicol Sci.* 2014;139(1):174-197.
69. Lee SG, Kim JY, Chung JY, et al. Bisphenol A exposure during adulthood causes augmentation of follicular atresia and luteal regression by decreasing 17beta-estradiol synthesis via downregulation of aromatase in rat ovary. *Environ Health Perspect.* 2013;121(6):663-669.
70. Luderer U, Kesner JS, Fuller JM, et al. Effects of gestational and lactational exposure to heptachlor epoxide on age at puberty and reproductive function in men and women. *Environ Res.* 2013;121:84-94.
71. Hart R, Doherty DA, Frederiksen H, et al. The influence of antenatal exposure to phthalates on subsequent female reproductive development in adolescence: a pilot study. *Reproduction.* 2014;147(4):379-390.
72. Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, et al. Urinary bisphenol A concentrations and implantation failure among women undergoing in vitro fertilization. *Environ Health Perspect.* 2012;120(7):978-983.
73. Caserta D, Bordi G, Ciardo F, et al. The influence of endocrine disruptors in a selected population of infertile women. *Gynecol Endocrinol.* 2013;29(5):444-447.
74. Grindler NM, Allsworth JE, Macones GA, Kannan K, Roehl KA, Cooper AR. Persistent organic pollutants and early menopause in U.S. women. *PLoS One.* 2015;10(1):e0116057.
75. Buske-Kirschbaum A. Cortisol responses to stress in allergic children: interaction with the immune response. *Neuroimmunomodulation.* 2009;16(5):325-332.
76. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G, Group ES. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet.* 2009;373(9680):2027-2033.
77. Ramos RG, Olden K. Gene-environment interactions in the development of complex disease phenotypes. *Int J Environ Res Public Health.* 2008;5(1):4-11.
78. Schmidt CW. Questions persist: environmental factors in autoimmune disease. *Environ Health Perspect.* 2011;119(6):A249-253.
79. Khardori R, Adamski A, Khardori N. Infection, immunity, and hormones/endocrine interactions. *Infect Dis Clin North Am.* 2007;21(3):601-615, vii.
80. Walker DM, Gore AC. Transgenerational neuroendocrine disruption of reproduction. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7(4):197-207.
81. Klecha AJ, Barreiro Arcos ML, Frick L, Genaro AM, Cremaschi G. Immune-endocrine interactions in autoimmune thyroid diseases. *Neuroimmunomodulation.* 2008;15(1):68-75.
82. Zoeller TR. Environmental chemicals targeting thyroid. *Hormones (Athens).* 2010;9(1):28-40.
83. Seli E, Arici A. Endometriosis: interaction of immune and endocrine systems. *Semin Reprod Med.* 2003;21(2):135-144.
84. Cobellis L, Latini G, De Felice C, et al. High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2003;18(7):1512-1515.
85. Mayani A, Barel S, Soback S, Almagor M. Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 1997;12(2):373-375.
86. Koninckx PR, Braet P, Kennedy SH, Barlow DH. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod.* 1994;9(6):1001-1002.
87. Porpora MG, Ingelido AM, di Domenico A, et al. Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. *Chemosphere.* 2006;63(8):1361-1367.
88. Heilier JF, Nackers F, Verougstraete V, Tonglet R, Lison D, Donnez J. Increased dioxin-like compounds in the serum of women with peritoneal endometriosis and deep endometriotic (adenomyotic) nodules. *Fertil Steril.* 2005;84(2):305-312.

89. Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, et al. Seveso Women's Health Study: a study of the effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive health. *Chemosphere*. 2000;40(9-11):1247-1253.