

Obiettivo specifico 2

Stima del ruolo svolto dall'interazione tra esposizione a inquinanti ambientali (diossine, PCB e IPA) e caratteristiche genetiche relative ad enzimi coinvolti nella biotrasformazione degli stessi inquinanti sulla salute riproduttiva femminile, specificamente nell'insorgenza di endometriosi.

Vittorio Abate¹, Annalisa Abballe¹, Tatiana Battista², Giovanni Caputi², Michele Conversano², Giovanna De Angelis³, Elena De Felip¹, Stefania Paola De Filippis¹, Silvia De Luca¹, Simonetta Gemma³, Nicola Iacovella¹, Anna Laura Iamiceli¹, Anna Maria Ingelido¹, Simona Insogna², Rossella Lattarulo², Valentina Marra¹, Roberto Miniero¹, Carmela Nanula², Antonio Pesaro², Carmela Russo², Emilio Stola⁴, Emanuela Testai³, Silvia Valentini¹, Franco Zampaglioni³

1: Reparto Chimica Tossicologica, Istituto Superiore di Sanità

2: Dipartimento di Prevenzione, ASL Taranto

3: Reparto Meccanismi di Tossicità, Istituto Superiore di Sanità

4: Ginecologia e Ostetricia, P.O. Centrale ASL Taranto

Introduzione

L'obiettivo 2 si proponeva di verificare l'esistenza di una correlazione tra endometriosi ed esposizione ad alcuni inquinanti ambientali ad elevata persistenza e tossicità (diossine, PCB e IPA) in donne residenti nei comuni di Taranto e Statte. Il disegno dello studio prevedeva il coinvolgimento di un gruppo di donne affette da endometriosi (60-80) e di un gruppo di donne di controllo (60-80), selezionate ed arruolate dalla ASL di Taranto. Per caratterizzare l'esposizione delle donne arruolate agli inquinanti di interesse era prevista la determinazione della "dose interna" di questi inquinanti tramite l'analisi di campioni di siero (diossine e IPA), urine (principali metaboliti ossidrilati di IPA) e sangue (*make up* genetico).

Sulla base di una valutazione statistica ed epidemiologica preliminare effettuata sulle Schede di Dimissione Ospedaliera della ASL TA si è ritenuto opportuno includere nel progetto CCM esclusivamente i residenti dei comuni di Taranto e Statte, peraltro afferenti alle aree ad elevato rischio di crisi ambientale.

Per l'arruolamento delle donne selezionate è stato predisposto da ISS e ASL di Taranto apposito materiale informativo costituito da: modulo di consenso informato, informativa a tutela della riservatezza dei dati personali, questionario contenente domande su fattori specifici (stili di vita, abitudini alimentari) utili all'interpretazione dei dati di biomonitoraggio. E' stato inoltre predisposto apposito materiale divulgativo per le donne partecipanti al progetto.

Lo studio, di tipo caso-controllo, prevedeva l'arruolamento di un gruppo di 60-80 donne con diagnosi laparoscopica di endometriosi (casi) e di un gruppo di 60-80 donne sottoposte a laparoscopia per motivi medici diversi (controlli).

Nello specifico, per la connotazione come "casi", erano state individuate le seguenti caratteristiche:

- ✓ endometriosi accertata attraverso intervento chirurgico nel periodo: secondo semestre anno 2010, anno 2011, anno 2012, anno 2013, anno 2014,
- ✓ età compresa tra 20 e 40 anni,
- ✓ residenza nell'area di Taranto o Statte da almeno 10 anni,
- ✓ non aver mai allattato.

Per la connotazione come "controlli", erano state individuate le seguenti caratteristiche:

- ✓ esclusione certa di endometriosi accertata con intervento chirurgico in laparoscopia
- ✓ età compresa tra 20 e 40 anni,
- ✓ residenza nell'area di Taranto o Statte da almeno 10 anni,
- ✓ non aver mai allattato.

Quest'ultimo criterio (non aver allattato) è fondamentale per non introdurre un fattore confondente nelle misure di esposizione, in quanto l'allattamento può ridurre

significativamente il carico corporeo di contaminanti lipofili persistenti come PBC e diossine. Lo studio è stato coordinato sul territorio dal Dipartimento di Prevenzione della ASL di Taranto in stretta collaborazione, e con il fondamentale supporto, del Reparto di Ginecologia e Ostetricia dell'Ospedale SS. Annunziata di Taranto per gli aspetti di tipo specialistico, ivi inclusa la stadiazione della patologia secondo la Classificazione AFS (*American Fertility Society*).

Il reclutamento delle donne è stato avviato nel mese di febbraio 2015 e si è concluso nel giugno 2016. Si è operato, previa raccolta del consenso informato e dell'informativa sulla privacy, attraverso l'esecuzione del prelievo di sangue e ritiro del campione di urine per ciascuna donna arruolata, e la somministrazione del questionario, secondo le procedure stabilite.

Il numero delle donne arruolate è di 121 (numero minimo previsto dal progetto), 60 donne con endometriosi (casi) e di 61 donne con diagnosi di assenza di patologia (controlli).

I campioni biologici (sangue e urine) raccolti dalla ASL di Taranto sono stati spediti per le analisi previste dal Progetto al Reparto di Chimica Tossicologica (per la determinazione analitica diossine, PCB e OH-IPA) ed al Reparto Meccanismi di Tossicità (per la determinazione dei polimorfismi genetici) dell'Istituto Superiore di Sanità.

Documentazione per il Comitato Etico di Brindisi e Taranto

Il linea con la determinazione del 20 marzo 2008 (GU del 31/03/2008 serie generale n. 76), nel mese di luglio 2014 è stato notificato al Comitato Etico di Brindisi lo Studio di "Biomonitoraggio e tossicità degli inquinanti presenti nel territorio di Taranto e in particolare relativamente alla "Stima del ruolo svolto dall'interazione tra esposizione ad inquinanti ambientali (diossine, PCB e IPA) e caratteristiche genetiche relative ad enzimi coinvolti nella biotrasformazione degli stessi inquinanti sulla salute riproduttiva femminile, specificamente nell'insorgenza di endometriosi".

Per l'occasione sono stati predisposti in collaborazione con l'ISS: il modulo di consenso informato, l'informativa a tutela della riservatezza dei dati personali, il questionario da somministrare al momento del prelievo ematico e contenente domande su fattori specifici (stili di vita, abitudini alimentari) utili all'interpretazione dei dati di biomonitoraggio.

E' stato altresì predisposto apposito materiale informativo per le donne partecipanti al progetto, contenente le risposte ad alcune possibili domande (indicate come FAQ), in grado di spiegare con un linguaggio semplice e comprensibile a non addetti ai lavori lo scopo e il significato dello studio, unitamente ai risultati attesi e ai soggetti responsabili del Progetto stesso e dei rispettivi ruoli.

Trattamento e conservazione dei dati.

La sede principale presso cui si è svolta la fase di arruolamento e raccolta campioni dello studio è stata la direzione del Dipartimento di Prevenzione della Asl di Taranto,

presso cui è stato conservato il materiale contenente dati sensibili (consenso informato, informativa privacy e questionario).

Il personale sanitario del Dipartimento di Prevenzione della Asl di Taranto, tenuto conto dei criteri di inclusione/esclusione, ha preparato una lista di codici che sono stati attribuiti a ciascun partecipante. I campioni biologici e i questionari sono stati inviati all'ISS privi di elementi che permettessero di ricondurre al singolo utente partecipante allo studio.

Solo il personale sanitario della Asl di Taranto conosce la corrispondenza codice-nome.

I materiali cartacei sono conservati presso gli archivi del Dipartimento di Prevenzione.

FASE DI ARRUOLAMENTO SVOLTA DALLA ASL DI TARANTO

Nel dicembre 2014 presso il Dipartimento di Prevenzione si è tenuta una videoconferenza con i responsabili delle attività dell'ISS per l'obiettivo 2, che ha coinvolto oltre al personale sanitario del Dipartimento di Prevenzione, i medici epidemiologi della U.O. di Statistica ed Epidemiologia dell'ASL TA e alcuni stakeholders.

Sulla base di valutazioni di appropriatezza inerenti lo studio, è stato condiviso tra attori ISS e ASL l'estensione del campione da arruolare per i casi:

- ✓ ricoveri dal secondo semestre del 2010 al 2014 (mobilità attiva e passiva);
- ✓ Chiamata attiva delle donne previa valutazione da parte della Ginecologia e Ostetricia della stadiazione della malattia (secondo la classificazione AFS) dando priorità ai casi più severi;

Nello specifico il gruppo dei "casi" è caratterizzato da donne:

- ✓ con endometriosi accertata attraverso intervento chirurgico nel periodo: secondo semestre anno 2010, anno 2011, anno 2012, anno 2013, anno 2014,
- ✓ di età compresa tra 20 e 40 anni,
- ✓ residenti nell'area di Taranto o Statte da almeno 10 anni,
- ✓ che non hanno mai allattato.

Il gruppo dei "controlli" è connotato dalle seguenti caratteristiche delle partecipanti:

- ✓ esclusione certa di endometriosi accertata con intervento chirurgico in laparoscopia
- ✓ età compresa tra 20 e 40 anni,
- ✓ residenza nell'area di Taranto o Statte da almeno 10 anni,
- ✓ non aver mai allattato.

Alle donne selezionate che hanno accettato il prelievo ematochimico e l'intervista sono stati preliminarmente sottoposti il modulo di consenso informato, l'informativa sulla tutela dei dati personali e un questionario atto a documentare l'esposizione

agli inquinanti in studio e la storia medica per quanto attiene la salute riproduttiva. Il volume di sangue prelevato corrisponde a circa 50 mL, unitamente ad un campione di urine.

I prelievi alle donne sono stati eseguiti da parte del personale infermieristico del Dipartimento di Prevenzione di Taranto presso sedi ambulatoriali di Taranto e Statte.

I campioni processati come da protocollo procedure operative standard fornite dall'ISS, sono stati conservati presso il Dipartimento di Prevenzione per essere poi essere spediti all'ISS, garantendo il mantenimento della catena del freddo.

Il reclutamento delle donne è stato avviato nel mese di febbraio 2015 e si è concluso nel maggio 2016. Al fine di incrementare il numero di controlli previsti per migliorare il reclutamento e/o adesione del campione al progetto si è provveduto ad attivare percorsi di recall del primo invito (**ALLEGATO 1**), anche ricorrendo all'intervento diretto da parte di specialisti ginecologi e di Medici di Medicina Generale che hanno in carico le donne individuate, per una opera di sensibilizzazione circa l'importanza di adesione al progetto.

Tutti i campioni biologici (sangue e urine) raccolti sono stati spediti per essere analizzati al Reparto di Chimica Tossicologica e al Reparto Meccanismi di Tossicità dell'Istituto Superiore di Sanità.

Analisi della situazione di avvio dell'arruolamento

Le donne eleggibili per lo studio sono state selezionate dalle SDO relative ai ricoveri in strutture sanitarie pubbliche e private provinciali ed extra-provinciali (secondo semestre 2010 -2014) e sulla base dei criteri di inclusione (età 20 - 40 anni, residenza a Taranto o Statte da almeno 10 anni, non aver mai allattato) verificati tramite chiamata attiva.

Sono stati individuati 166 possibili casi e 224 possibili controlli.

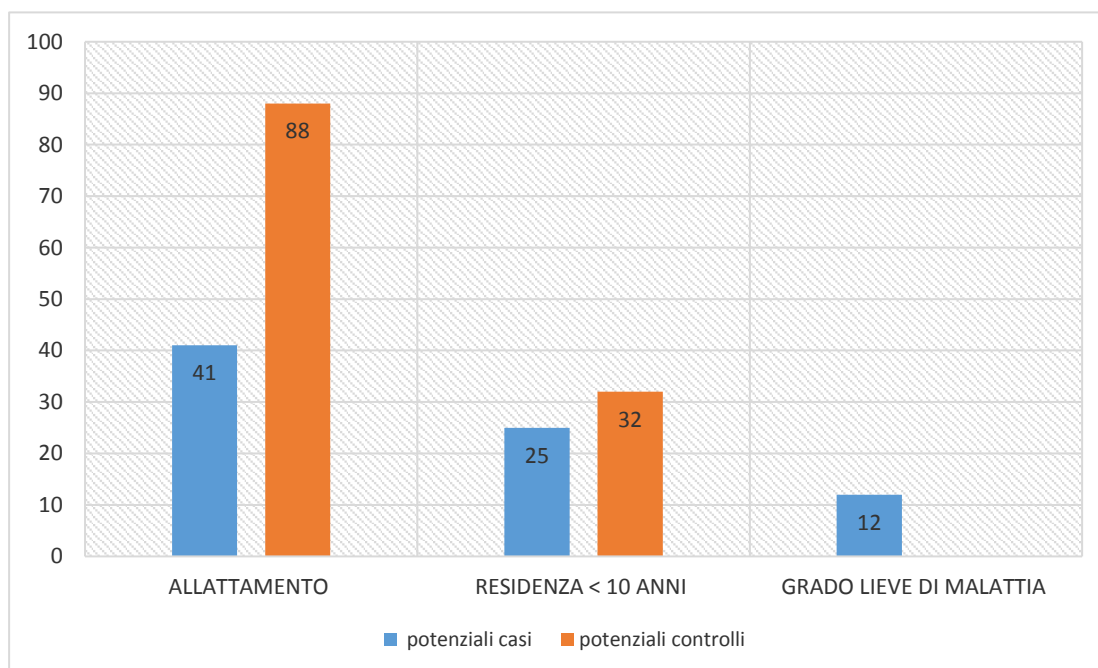
In tabella 1 sono rappresentati il n° dei casi e dei controlli arruolati per anno di ricovero riportato nella SDO.

Tabella 1: n° dei potenziali casi e dei controlli per anno di ricovero (da SDO)

	II sem 2010	2011	2012	2013	2014
CASI	19	44	38	40	25
CONTROLLI	21	52	61	46	44

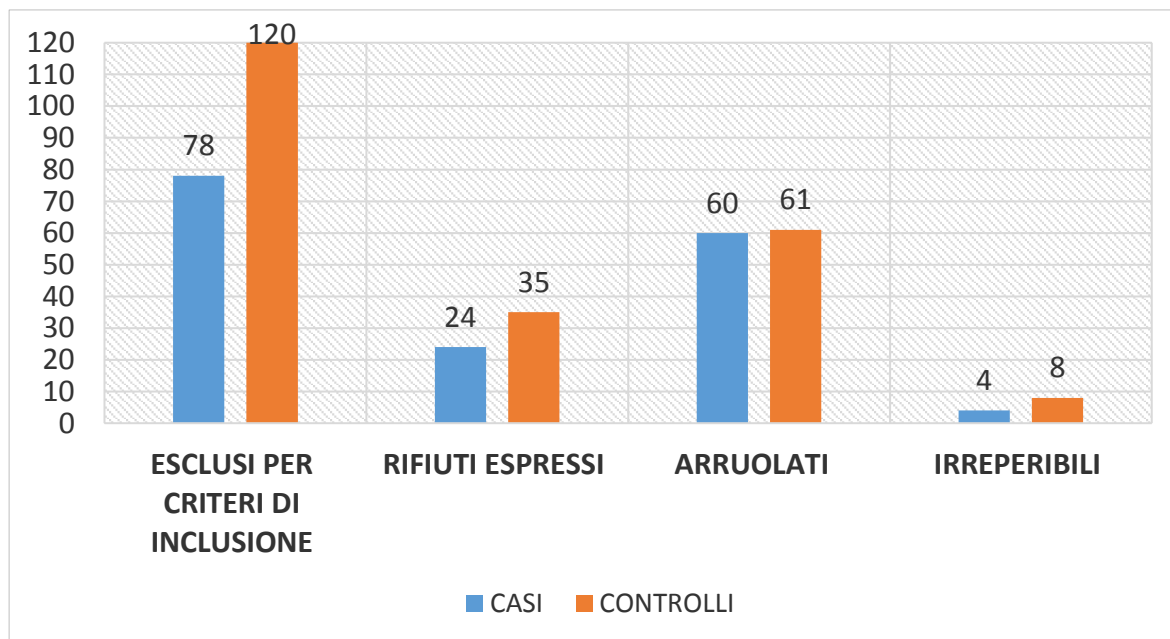
Nella figura 1 sono rappresentate le cause di esclusione per i potenziali casi e controlli arruolati (da SDO): si evince che la proporzione di donne escluse a causa dell'allattamento è doppia nel gruppo dei controlli rispetto a quella dei casi.

Figura 1: Analisi delle cause di esclusione



Nella figura 2 è evidenziato l'esito del processo di arruolamento tra il campione dei casi e dei controlli. I casi arruolati sono stati 60 (adesione del 72%) mentre i controlli arruolati sono stati 61 (adesione del 63%).

Figura 2: Esito del processo di arruolamento: confronto tra il campione dei potenziali Casi e Controlli (da SDO)



RESTITUZIONE DEI DATI

Al termine dello studio sarà promossa la diffusione e corretta interpretazione del significato dei dati ottenuti presso i gruppi di popolazione interessati, la comunità scientifica, le autorità in campo scientifico, amministrativo e politico responsabili di azioni di gestione e contenimento del rischio.

I risultati saranno presentati in forma aggregata alla comunità locali secondo i modi e i tempi descritti dal Programma CCM.

I referti degli esami ematochimici tossicologici saranno consegnati individualmente a termine dell'indagine, da parte del personale sanitario autorizzato del Dipartimento di Prevenzione di Taranto.



ALLEGATO 1

Taranto,

“STUDIO DI BIOMONITORAGGIO E TOSSICITÀ DEGLI INQUINANTI PRESENTI NEL TERRITORIO DI TARANTO”

VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE AGLI INQUINANTI AMBIENTALI DIOSSINE PCB E IPA E DELL'INTERAZIONE CON CARATTERISTICHE GENETICHE NELL'INSORGENZA DI ENDOMETRIOSI

Gentile Signora,

La contattiamo per informarla che la ASL di Taranto e l'Istituto Superiore di Sanità hanno avviato un programma per valutare la salute riproduttiva delle donne esposte a elevati livelli di inquinamento ambientale, in particolare in relazione all'endometriosi, malattia molto frequente nel nostro territorio, specialmente per la popolazione che risiede in zone situate in prossimità dell'area industriale di Taranto e Statte.

Il programma le offre una valutazione completa e gratuita della sua esposizione ad inquinanti ambientali come diossine, policlorobifenili (PCB) e idrocarburi policiclici aromatici (IPA).

Il biomonitoraggio consiste nella valutazione dei valori di inquinanti presenti in sangue e urine, e pertanto sarà necessario eseguire un prelievo, a cura del Personale della ASL negli ambulatori screening del Dipartimento di Prevenzione, e la consegna di un campione di urine.

Nei prossimi giorni gli operatori sanitari la contatteranno per informarla dettagliatamente e fissare un appuntamento.

Per ulteriori approfondimenti sul programma è possibile accedere al sito internet dell'Istituto Superiore di Sanità.

Per eventuali chiarimenti può contattarci dal lunedì al venerdì (ore 9-13) ai seguenti numeri telefonici 099/7786522– 099/7786509.

Il Direttore della
S.C.
Ginecologia e
Ostetricia
P.O. Centrale di
Taranto
Dr Emilio Stola

Il Direttore del
Dipartimento di
Prevenzione
Dr Michele
Conversano

INFORMAZIONI UTILI

Perché è stata scelta l'Endometriosi?

Perché si tratta di una patologia la cui insorgenza, pur dipendendo da alterazioni del sistema immunitario, endocrino e da una possibile predisposizione genetica, può essere causata da una serie di fattori tra cui l'esposizione a contaminanti ambientali.

Qual è il fine del progetto?

Il progetto vuole verificare la correlazione tra fattori genetici ed esposizione ad alcuni inquinanti ambientali ad elevata persistenza e tossicità in relazione all'insorgenza di endometriosi. Si intende monitorare l'andamento e la ricorrenza della malattia, rilevare le problematiche connesse e le eventuali complicanze, mettendo in atto strategie di prevenzione nelle zone a rischio.

Chi organizza lo studio?

Il programma è coordinato dal punto di vista scientifico dall'Istituto Superiore di Sanità, e in particolare dal Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria.

Nella ASL di Taranto la ricerca è coordinata dal Dipartimento di Prevenzione in stretta collaborazione con il reparto di Ginecologia dell'Ospedale di Taranto per gli aspetti di tipo specialistico.

Perché è stato selezionato il mio nominativo?

Il Suo nominativo è stato ottenuto dagli archivi sanitari della ASL di Taranto, sulla base della corrispondenza ad alcune caratteristiche di interesse (età fra i 20 e i 40 anni e residenza a Taranto).

ATTIVITÀ SVOLTA DAL REPARTO DI CHIMICA TOSSICOLOGICA DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

I campioni di siero ricevuti (N=121) sono stati estratti, purificati e analizzati per la ricerca dei seguenti inquinanti:

Policlorodibenzodiossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF), comunemente indicati come “diossine”, 17 congeneri;

Policlorobifenili (PCB), 12 congeneri ad attività diossina-simile (DL-PCB), 31 congeneri ad azione non diossina simile (NDL-PCB), tra cui i 6 cosiddetti “indicatori” (NDL₆-PCB).

I campioni di urina ricevuti (N=120) sono stati sottoposti ad analisi per la determinazione dei seguenti metaboliti ossidrilati di idrocarburi policiclici aromatici (OH-IPA): 1-idrossinaftalene (1-OH-NAP), 2-idrossinaftalene (2-OH-NAP), 2-idrossifluorene (2-OH-FLU), 3-idrossifluorene (3-OH-FLU), 9-idrossifluorene (9-OH-FLU), 1-idrossifenantrene (1-OH-PHEN), 2-idrossifenantrene (2-OH-PHEN), 3-idrossifenantrene (3-OH-PHEN), 4-idrossifenantrene (4-OH-PHEN), 1-idrossipirene (1-OH-PYR).

L'analisi è stata effettuata tramite gas cromatografia associata a spettrometria di massa a bassa risoluzione (per i NDL-PCB) e ad alta risoluzione (per PCDD, PCDF, DL-PCB e OH-IPA), previe le necessarie procedure di estrazione e purificazione.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica insieme alle informazioni estratte dai questionari.

Risultati relativi a policlorodibenzodiossine (PCDD), policlorodibenzofurani (PCDF) e policlorobifenili (PCB)

La statistica descrittiva delle concentrazioni cumulative osservate di PCDD, PCDF e PCB è riportata in Tabella 1. Le concentrazioni di PCDD, PCDF e DL-PCB riportate in Tabella sono espresse in equivalenti di tossicità (TE), utilizzando i fattori di conversione (TEF) definiti nel 1998 e nel 2005 (Van den Berg et al., 1998; Van den Berg et al., 2006); nelle successive analisi statistiche sono stati utilizzati i soli dati espressi in TE del 2005.

Per tutti i contaminanti analizzati, i livelli di concentrazione osservati nelle donne di questo studio (N=121) risultano in linea con quelli rilevati in donne (N=85, età 20-40 anni) residenti a Taranto e provincia* arruolate nel 2011-2012 nell'ambito del Progetto Life Plus "Womenbiopop" e confrontabili con quelli riferiti all'intero gruppo di donne (476, residenti in diverse regioni italiane) arruolate in tale progetto (Ingelido et al., 2016)**.

I dati di concentrazione ottenuti risultano non seguire una distribuzione normale e, solo per alcune famiglie di contaminanti, si osservano distribuzioni debolmente log-normali. La trattazione statistica dei dati è stata quindi effettuata applicando test non parametrici.

Per tutte le famiglie di contaminanti, mediane e medie geometriche delle concentrazioni rilevate nelle donne con endometriosi sono risultate maggiori di quelle relative alle donne appartenenti al gruppo di controllo. Per valutare la differenza fra le concentrazioni rilevate nei casi e nei controlli è stato applicato il test non parametrico di Mann-Whitney (Tabella 2). I risultati del test mostrano che le concentrazioni di PCDD+PCDF+DL-PCB (Tot TE) e PCDD+PCDF sono superiori in modo statisticamente significativo nei casi ($p<0.05$). Tuttavia, poiché i casi hanno un'età significativamente ($p=0.038$) più alta dei controlli, e l'età è un fattore che influenza notevolmente la concentrazione di contaminanti nel siero (le concentrazioni di tutte le famiglie di contaminanti considerate correlano fortemente con l'età, Test di Spearman, $p<<0.01$), il test di Mann Whitney è stato ripetuto dopo stratificazione per fasce d'età (20-33 e 34-40 anni): la differenza fra casi e controlli per PCDD+PCDF+DL-PCB (Tot TE) e PCDD+PCDF è risultata aumentare di significatività per le donatrici fra 20 e 33 anni (e anche per DL-PCB, NDL₆-PCB e NDL-PCB si osservano differenze debolmente significative, $p<0.08$), ma è risultata non più significativa per quelle nella fascia di età più alta.

Per valutare il rischio relativo di endometriosi associato a concentrazioni più alte di contaminanti nel siero, i dati di concentrazione sono stati raggruppati in terzili e classificati come livello basso (sotto il primo terzile) e medio/alto (sopra il primo

terzile) di contaminante e utilizzati per il calcolo delle Odds Ratio (OR) grezze e stratificate per età. I risultati sono riportati in Tabella 3.

Livelli di concentrazione medio/alti di Tot TE, PCDD+PCDF, NDL₆-PCB e NDL-PCB risultano essere associati a un aumento di rischio statisticamente significativo, seppur contenuto, di endometriosi rispetto ai livelli bassi; stratificando per età l'aumento di rischio rimane significativo (tranne che per NDL₆-PCB) per le donne di età compresa fra 20 e 33 anni. Risultati analoghi, relativamente ai PCB, erano stati evidenziati in uno studio simile condotto su donne residenti a Roma (Porpora et al, 2009).

I risultati relativi alle sole donne con endometriosi di grado III e IV sono stati sottoposti a test di Mann Whitney per testare la presenza di un'eventuale differenza di concentrazione correlata allo stadio di endometriosi. I risultati del test, riportati in tabella 4, mostrano che non si evidenzia differenza significativa per nessun contaminante. L'assenza di significatività si mantiene anche ripetendo il test dopo stratificazione per età.

(*) In questo gruppo di donne le concentrazioni osservate (come valori mediani) erano le seguenti:

PCDD+PCDF+DL-PCB (Tot TE): 9.2 pgTE₀₅/g grasso; PCDD+PCDF: 6.1 pgTE₀₅/g grasso; DL-PCB: 3.4 pgTE₀₅/g grasso; NDL₆-PCB: 76 ng/g grasso.

(**) Nell'intero gruppo di donne (N=476) le concentrazioni osservate (come valori mediani) erano le seguenti:

PCDD+PCDF+DL-PCB (Tot TE): 9.6 pgTE₀₅/g grasso; PCDD+PCDF: 6.0 pgTE₀₅/g grasso; DL-PCB: 3.5 pgTE₀₅/g grasso; NDL₆-PCB: 75 ng/g grasso

Risultati dell'analisi dei metaboliti ossidrilati di idrocarburi policiclici aromatici (OH-IPA):

Ai fini della valutazione statistica sono stati considerati validi solo quei campioni con livelli di creatinina compresi tra 30 e 300 mg/dL (WHO, 1996). Campioni con livelli di creatinina al di fuori di tale intervallo sono generalmente considerati non idonei a causa di un'eccessiva diluizione o concentrazione delle urine. La stima dei parametri statistici è stata effettuata assegnando ai risultati al di sotto del LOQ valori pari a metà del LOQ, considerando che la frequenza di tali dati non superava il 60 % (GEMS/FOOD, 2003).

I livelli urinari nei campioni analizzati sono stati espressi sia in pg/mL di urina sia corretti per la creatinina escreta (ng/g creatinina). Tale correzione ha il fine di normalizzare la concentrazione delle sostanze chimiche escrete per consentire una migliore comparabilità fra gruppi di dati (Barr et al., 2005).

A causa dell'assenza di normalità delle distribuzioni (test di Shapiro-Wilk) sono stati utilizzati test non parametrici quali il test di Spearman per lo studio di correlazione fra coppie di variabili, e il test di Mann-Whitney per la valutazione della differenza fra due gruppi di dati. Tali test sono stati applicati ai soli dati corretti per creatinina considerando statisticamente significative differenze associate a valori di p inferiori a 0.05.

I livelli di cotinina urinaria sono stati utilizzati per valutare l'esposizione al fumo di tabacco. Indipendentemente da quanto dichiarato nel questionario, le donne con concentrazioni urinarie di cotinina inferiori a 200 µg/g creatinina sono state classificate come non fumatrici, quelle con livelli di cotinina al di sopra di 200 µg/g creatinina sono state classificate come fumatrici.

La Tabella 5 riporta i parametri delle distribuzioni calcolati sia a partire dai dati aggregati che suddivisi per donne con endometriosi/donne senza endometriosi e diversa esposizione al fumo da tabacco. Nel complesso i livelli urinari degli OH-IPA in studio (Σ_{10} OH-IPA) coprono l'intervallo 868–152895 pg/mL (1928–91009 ng/g creatinina) con mediana (P_{50}) pari a 19632 pg/mL (16473 ng/g creatinina).

Come riportato in altri studi (Li et al., 2008) i singoli metaboliti sono quantificati a concentrazioni molto diverse tra loro in funzione del loro peso molecolare: l'1- e il 2-OH-NAP (due anelli condensati) rappresentano mediamente l'84% degli OH-IPA analizzati (il 2-OH-NAP è il composto più abbondante), seguiti dai metaboliti del fluorene e del fenantrene (tre anelli condensati) che contribuiscono, rispettivamente, in misura pari al 5 % e al 2 %; l'1-OH-PYR, unico composto tra quelli analizzati con quattro anelli condensati, rappresenta ca. l'1%. Il profilo analitico sopra descritto, determinato dai contributi composto-specifici del sistema multicomponente osservato, è comparabile con quelli riportati in letteratura per popolazioni non occupazionalmente esposte. A titolo esemplificativo la Figura 1 confronta i risultati,

espressi come mediane, ottenuti per la popolazione generale di sesso femminile in programmi di sorveglianza quali quelli condotti in USA dal CDC (CDC, 2012) e in Canada (2015) dall'Health Canada.

I livelli urinari dei metaboliti in studio ($\Sigma_{10}\text{OH-IPA}$) relativi al gruppo di donne con endometriosi (N=60) sono confrontabili con quelli osservati nel gruppo di controllo (N=59) presentando valori di mediana pari, rispettivamente, a 16200 e a 16635 ng/g creatinina: al test di Mann-Whitney (Tabella 6) la differenza fra i due gruppi è risultata non significativa per tutti gli analiti considerati. Non si osservano differenze rilevanti neanche confrontando il profilo composto-specifico ottenuto per le donne con endometriosi con quello ottenuto per il gruppo di controllo (Figura 2).

In relazione all'esposizione al fumo da tabacco, le fumatrici presentano concentrazioni di OH-IPA sistematicamente più elevate rispetto a quelle trovate per le non fumatrici (differenze statisticamente significative al test di Mann-Whitney, Tabella 7). Per ciò che concerne la somma $\Sigma_{10}\text{OH-IPA}$ la mediana è risultata pari a 24357 e 9826 ng/g creatinina per i due gruppi rispettivamente. L'effetto dell'esposizione al fumo da tabacco sui livelli degli OH-IPA d'interesse è evidente in Figura 3 che riporta i profili composto-specifici osservati per le fumatrici e per le non fumatrici: i contributi dei composti analizzati sono confrontabili per quanto concerne i metaboliti del fluorene, del fenantrene e del pirene, ma differiscono in maniera significativa in relazione ai metaboliti del naftalene. Nelle fumatrici, infatti, il 2-OH-NAP rappresenta il 56 % degli OH-IPA analizzati, con un valore di mediana doppia rispetto a quella calcolata per l'1-OH-NAP. Nelle non fumatrici il contributo del 2-OH-NAP agli OH-IPA analizzati aumenta significativamente rispetto a quello dell'1-OH-NAP (86 e 4 %, rispettivamente).

L'esistenza di eventuali correlazioni fra coppie di variabili è stata valutata mediante il test per ranghi di Spearman. L'applicazione del test all'intero insieme di dati e ai sottoinsiemi casi/controlli ha mostrato una correlazione altamente significativa fra i diversi metaboliti considerati ($p < 0.05$). La correlazione con l'età, invece, è risultata significativa solo per il 2-OH-NAP ($p=0.001$) e per l'1-OH-PHE ($p=0.01$), i cui livelli risultano più elevati per donne di età maggiore.

I livelli di OH-IPA qui descritti sono stati confrontati con quelli ottenuti in un vasto studio, tuttora in corso, attuato da ASL-TO1 e ASL-TO3 in collaborazione con l'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale del Piemonte e l'Istituto Superiore di Sanità, Reparto di Chimica Tossicologica, in un gruppo di donne residenti in prossimità del termovalorizzatore di rifiuti di Torino prima della sua entrata in funzione (Sorveglianza sulla salute della popolazione nei pressi del termovalorizzatore di Torino, http://www.dors.it/spott_home.php). Il confronto evidenzia che, nel complesso, le donne di Taranto presentano livelli di esposizione mediamente più elevati rispetto a quelli riscontrati a Torino (Figura 4). Considerando i dati aggregati, le stime del 95° percentile (P_{95}) calcolate nel presente studio sono

superiori ai valori di riferimento (espressi come P_{95}) calcolati per le donne di Torino (Tabella 8). Inoltre, l'applicazione del test di Mann-Whitney ha evidenziato che, pur nei limiti della diversa numerosità campionaria, le donne di Taranto (N=119) presentano, rispetto alle donne di Torino (N=177), livelli statisticamente più elevati per il 2-OH-NAP ($p < 0.0001$), il 2-OH-FLU ($p < 0.0001$), il 3-OH-FLU ($p = 0.0004$) e l'1-OH-PYR ($p < 0.0001$). Se il test viene ripetuto solo sul sottogruppo delle non fumatrici, le donne di Taranto (N=63) presentano, rispetto alle donne di Torino (N=145), livelli statisticamente più elevati solo per il 2-OH-NAP (7419 vs/ 3770 ng/g creatinina, $p < 0.0001$) e l'1-OH-PYR (115 vs/ 75.0 ng/g creatinina, $p=0.0003$) e la somma $\Sigma_{10}\text{OH-IPA}$ (9826 vs/ 6416 ng/g creatinina, $p = 0.0003$).

Conclusioni

I risultati dello studio evidenziano concentrazioni di PCDD, PCDF, DL-PCB e NDL-PCB in linea con i valori osservati in un recente studio su gruppi di donne della popolazione generale italiana con caratteristiche confrontabili a quelle del presente studio.

Complessivamente, le concentrazioni di contaminanti nel siero risultano essere più elevate nelle donne con endometriosi rispetto al gruppo di controllo. Risultati simili, relativamente ai PCB, erano stati evidenziati in uno studio analogo condotto su donne residenti a Roma (Porpora et al, 2009).

La differenza di concentrazione è statisticamente significativa per Tot TE e PCDD+PCDF. Stratificando per età, tale differenza perde significatività per le donne nella fascia di età >33 anni, mentre rimane significativa per quelle di età compresa fra 20 e 33 anni. .

Livelli medio/alti di concentrazione nel siero di Tot TE, PCDD+PCDF, NDL-PCB risultano associati, nei limiti della numerosità campionaria considerata, a un aumento di rischio di endometriosi statisticamente significativo, seppur contenuto, rispetto ai livelli bassi; stratificando per età l'aumento di rischio permane per le donne di età compresa fra 20 e 33 anni e perde in significatività per quelle di età più alta.

Non si evidenziano associazioni fra la concentrazione di contaminanti e lo stadio dell'endometriosi nell'ambito di quelli considerati in nessuna delle due fasce di età considerate

Per quanto riguarda gli OH-IPA, i risultati dello studio evidenziano, per tutti i metaboliti considerati, l'assenza di differenze di concentrazione statisticamente significative tra le donne con endometriosi e il gruppo di controllo. I livelli di OH-IPA nel gruppo delle fumatrici sono significativamente più elevati rispetto a quelli determinati nelle non fumatrici.

Il confronto con i risultati di uno studio condotto su un gruppo di donne residenti a Torino evidenzia, nell'intero gruppo delle donne del presente studio, concentrazioni significativamente più elevate per quasi tutti gli OH-IPA analizzati. Dopo

stratificazione per abitudine al fumo, rimangono fortemente significative nelle non fumatrici dei due studi le differenze di concentrazione di 2-OH-NAP, 1-OH-PYR e la somma Σ_{10} OH-IPA. Questa osservazione suggerisce l'opportunità di approfondire la conoscenza del contesto espositivo a idrocarburi policiclici aromatici delle donne residenti a Taranto, pur non evidenziando il presente studio una correlazione tra esposizione a questi inquinanti e la patologia investigata.

Referenze

Barr D.B., Wilder L.C., Caudill S.P., Gonzalez A.J., Needham L.L., Pirkle J.L. (2005). Urinary Creatinine Concentrations in the U.S. Population: Implications for Urinary Biologic Monitoring Measurements. . *Environ Health Perspect* 113, 192–200.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention (2012). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updated Tables. Available at: <http://www.cdc.gov/exposurereport>

GEMS/Food (2003). Regional Diets (Appendix 4: Evaluation of low level contamination of foods). Global Environment Monitoring System, Food Contamination Monitoring and Assessment Programme, Food Safety Department, World Health Organization (Geneva, Switzerland).

Health Canada (2015). Third report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada, Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 3 (2012–2013).

Ingelido et al. Concentrations of Polychlorodibenzodioxins (PCDDs), polychlorodibenzofurans (PCDFs), and polychlorobiphenyls (PCBs) in Women of Reproductive Age in Italy: a Human Biomonitoring Study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, accepted pending minor revisions.

Li Z., Sandau C.D., Romanoff L.C., Caudill S.P., Sjödin A., Needham L.L., Patterson Jr. D.G. (2008). Concentration and profile of 22 urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in the US population. *Environmental Research* 107, 320–331.

Porpora MG, Medda E, Abballe A, Bolli S, De Angelis I, di Domenico A, et al. Endometriosis and organochlorinated environmental pollutants: a case-control study on Italian women of reproductive age. *Environ Health Perspect* 2009;117:1070–5.

Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld AT, Brunström B, Cook P, Feeley M, et al. 1998. Toxic equivalency factors (TEFs) for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 106(12):775–92.

Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 93:223–241.

WHO (1996). Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace. Vol. 1. World Health Organization, Geneva.

Tabella 1. Statistica descrittiva dei risultati cumulativi delle analisi di PCDD, PCDF e PCB. In tabella è riportato anche il valore TotTE corrispondente alla somma PCDD+PCDF+DL-PCB in equivalenti di tossicità. Per gli NDL-PCB viene riportata accanto alla somma totale di tutti i congeneri analizzati anche la somma dei 6 PCB indicatori indicata con NDL6-PCB).

Analita	Unità di misura	N	Minimo	P ₂₅	Mediana	Media Geometrica	Media	P ₇₅	P ₉₅	Massimo
Tutto il gruppo										
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	121	4.57	7.21	8.82	9.17	9.78	11.74	15.69	24.97
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	121	2.80	4.63	5.69	5.88	6.25	7.27	10.82	16.44
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	121	1.28	2.27	3.04	3.12	3.53	4.08	7.71	12.22
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	121	18.70	53.53	77.26	77.98	93.60	109.01	220.28	514.14
NDL-PCB	ng/g grasso	121	28.75	78.03	109.84	116.07	139.18	159.20	331.31	779.52
Tot TE	pgTE ₉₈ /g grasso	121	5.68	9.57	11.96	12.42	13.32	16.02	24.51	34.11
PCDD+PCDF	pgTE ₉₈ /g grasso	121	3.53	5.71	7.15	7.26	7.71	8.86	13.11	20.34
DL-PCB	pgTE ₉₈ /g grasso	121	1.84	3.53	4.86	4.93	5.61	6.66	12.96	23.55
Controlli										
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	61	4.57	6.62	7.82	8.69	9.36	11.24	18.59	24.97
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	61	2.8	4.26	5.33	5.5	5.87	6.67	9.24	13.2
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	61	1.28	1.99	2.94	3.01	3.49	3.92	8.13	12.22
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	61	18.7	47.49	67.14	73.91	93.33	107.38	220.52	514.14
NDL-PCB	ng/g grasso	61	28.75	72.83	101.1	111.42	140.29	159.2	332.9	779.52
Tot TE	pgTE ₉₈ /g grasso	61	5.68	8.82	10.41	11.74	12.8	15.2	26.12	34.11
PCDD+PCDF	pgTE ₉₈ /g grasso	61	3.53	5.39	6.23	6.73	7.19	8.25	11.57	15.94
DL-PCB	pgTE ₉₈ /g grasso	61	2.05	3.13	4.63	4.78	5.61	6.4	14.25	23.55
Casi										
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	60	5.48	7.79	9.22	9.69	10.21	12.37	15.69	22.72
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	60	3.74	5	6.09	6.3	6.64	7.36	12.49	16.44
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	60	1.29	2.33	3.16	3.23	3.57	4.47	6.56	8.47
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	60	26.38	60.46	78.86	82.34	93.88	109.06	220.28	402.36
NDL-PCB	ng/g grasso	60	39.68	89.69	116.44	121	138.05	160.93	321.02	593.97
Tot TE	pgTE ₉₈ /g grasso	60	7.07	10.75	12.46	13.16	13.85	17.21	24.51	29.24
PCDD+PCDF	pgTE ₉₈ /g grasso	60	4.35	6.26	7.35	7.83	8.24	9.02	16.27	20.34
DL-PCB	pgTE ₉₈ /g grasso	60	1.84	3.67	5	5.09	5.61	6.68	11.01	16.16

Tabella2. Test di Mann-Whitney fra le concentrazioni di contaminanti misurate nelle donne con endometriosi e nei controlli.

		Rank Sum Controlli	Rank Sum Casi	U	Z	p-level	Valid N	Valid N
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	3318	4063	1427	-2.087	0.037	61	60
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	3316	4065	1425	-2.097	0.036	61	60
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	3512	3869	1621	-1.081	0.280	61	60
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	3460	3921	1569	-1.350	0.177	61	60
NDL-PCB	ng/g grasso	3499	3882	1608	-1.148	0.251	61	60
Età 20-33								
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	803	1027	275	-2.556	0.011	32	28
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	827	1003	299	-2.200	0.028	32	28
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	852	978	324	-1.830	0.067	32	28
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	851	979	323	-1.845	0.065	32	28
NDL-PCB	ng/g grasso	856	974	328	-1.771	0.077	32	28
Età 34-40								
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	866	1025	431	-0.469	0.639	29	32
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	840	1051	405	-0.845	0.398	29	32
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	926	965	437	0.383	0.702	29	32
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	920	971	443	0.296	0.767	29	32
NDL-PCB	ng/g grasso	937	954	426	0.542	0.588	29	32

Tabella 3. Rischio relativo di endometriosi per le donatrici con livello medio/alto di contaminanti rispetto a quelle con livello basso, grezzo e stratificato per età.

Analita	Livello di concentrazione	N casi	N controlli	Odds Ratio	Intervallo di confidenza 95%		
Tot TE	Medio/alto	46	34	2.61	1.19	–	5.71
	Basso	14	27				
PCDD+PCDF	Medio/alto	45	35	2.23	1.03	–	4.83
	Basso	15	26				
DL-PCB	Medio/alto	43	37	1.64	0.77	–	3.51
	Basso	17	24				
NDL ₆ -PCB	Medio/alto	45	35	2.23	1.03	–	4.83
	Basso	15	26				
NDL-PCB	Medio/alto	45	35	2.23	1.03	–	4.83
	Basso	15	26				
Tot TE, 20-33 anni	Medio/alto	22	14	4.71	1.51	–	14.76
	Basso	6	18				
Tot TE, 34-40 anni	Medio/alto	24	20	1.35	0.44	–	4.15
	Basso	8	9				
PCDD+PCDF, 20-33 anni	Medio/alto	21	16	3	1	–	9.02
	Basso	7	16				
PCDD+PCDF, 34-40 anni	Medio/alto	24	19	1.58	0.52	–	4.78
	Basso	8	10				
DL-PCB, 20-33 anni	Medio/alto	19	16	2.11	0.74	–	6.05
	Basso	9	16				
DL-PCB, 34-40 anni	Medio/alto	24	21	1.14	0.36	–	3.58
	Basso	8	8				
NDL ₆ -PCB, 20-33 anni	Medio/alto	19	14	2.71	0.94	–	7.81
	Basso	9	18				
NDL ₆ -PCB, 34-40 anni	Medio/alto	26	21	1.65	0.49	–	5.51
	Basso	6	8				
NDL-PCB , 20-33 anni	Medio/alto	19	13	3.09	1.07	–	8.92
	Basso	9	19				
NDL-PCB , 34-40 anni	Medio/alto	26	22	1.38	0.4	–	4.71
	Basso	6	7				

Tabella 4. Test di Mann-Whitney fra le concentrazioni di contaminanti misurate nelle donne con differente (III e IV) stadio di endometriosi.

		Rank Sum III stadio Endometriosi	Rank Sum IV stadio Endometriosi	U	Z	p-level	Valid N III stadio Endometriosi	Valid N IV stadio Endometriosi
Tot TE	pgTE ₀₅ /g grasso	421	1232	268	-1.247	0.212	17	40
PCDD+PCDF	pgTE ₀₅ /g grasso	475	1178	322	-0.305	0.760	17	40
DL-PCB	pgTE ₀₅ /g grasso	404	1249	251	-1.544	0.123	17	40
NDL ₆ -PCB	ng/g grasso	469	1184	316	-0.410	0.682	17	40
NDL-PCB	ng/g grasso	472	1181	319	-0.358	0.721	17	40

Tabella 5. Statistica descrittiva inerente i livelli urinari di OH-IPA determinati nel gruppo di donne in studio relativamente all'insieme di tutti i dati e per sottoinsiemi. Ai fini della trattazioni statistica dati al di sotto del LOQ sono stati posti pari a metà del LOQ (approccio *medium bound*).

	Unità di misura	N	X _{MIN}	P ₂₅	P ₅₀	GM	Media	P ₇₅	P ₉₅ ^a	X _{MAX}
Tutti i dati										
Creatinina	g/L	119	0.40	0.86	1.47	1.28	1.43	1.92	2.56	3.00
Cotina	µg/g creatinina	119	7.40	8.00	36.0	167	2064	4532	6590	7632
1-OH-NAP	pg/mL	119	7.20	480	2401	2208	8200	11763	25598	133523
2-OH-NAP	pg/mL	119	581	7761	13952	12496	17752	20580	47846	107442
2-OH-FLU	pg/mL	119	47.1	197	453	481	897	1216	3271	8987
3-OH-FLU	pg/mL	119	3.00	63.1	164	207	642	833	2300	7402
9-OH-FLU	pg/mL	119	27.6	177	323	301	381	487	836	1897
1-OH-PHEN	pg/mL	119	25.1	124	195	193	253	303	702	1339
2-OH-PHEN	pg/mL	119	8.80	41	72	69	89	110	256	436
3-OH-PHEN	pg/mL	119	9.00	64.2	121	110	160	175	488	798
4-OH-PHEN	pg/mL	119	3.10	15.4	30.2	27.9	42.4	45.6	124	361
1-OH-PYR	pg/mL	119	26	152	238	229	336	401	1005	3469
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	pg/mL	119	868	9884	19632	19526	28753	41313	80809	152895
1-OH-NAP	ng/g creatinina	119	16.0	344	1883	1730	5731	8348	21347	68124
2-OH-NAP	ng/g creatinina	119	1273	5649	10266	9791	13441	16261	37131	75681
2-OH-FLU	ng/g creatinina	119	82.7	154	299	377	656	898	2294	5349
3-OH-FLU	ng/g creatinina	119	5.70	51.9	107	162	468	695	2169	4406
9-OH-FLU	ng/g creatinina	119	52.0	145	227	236	308	388	1017	1650
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	119	36.8	89	140	151	188	240	519	797
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	119	11.5	31.0	54.9	54.0	67.9	86.4	172	260
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	119	15.5	50.1	82.2	86.0	115	133	374	490
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	119	2.64	12.3	21.7	21.8	31.4	40	95	169
1-OH-PYR	ng/g creatinina	119	40.3	106	151	179	242	328	570	2065
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	ng/g creatinina	119	1928	7953	16473	15299	21250	27822	56200	91009

(Continua)

(Tabella 5. Continuazione 1)

	Unità di misura	N	X _{MIN}	P ₂₅	P ₅₀	GM	Media	P ₇₅	P ₉₅ ^a	X _{MAX}
Casi										
Creatinina	g/L	60	0.40	0.80	1.40	1.24	1.38	1.90	2.40	2.60
Cotina	µg/g creatinina	60	7.40	8.00	9.00	105	1678	3855.50	5686	7165
1-OH-NAP	pg/mL	60	51.1	514	1518	1873	7030	7891	23411	133523
2-OH-NAP	pg/mL	60	675	8472	13980	13325	17036	20538	44373	52332
2-OH-FLU	pg/mL	60	47.1	218	405	442	726	873	3439	3741
3-OH-FLU	pg/mL	60	3.00	66.0	146	180	551	528	3109	5869
9-OH-FLU	pg/mL	60	27.6	189.8	311.0	301.2	369	449	882	1261
1-OH-PHEN	pg/mL	60	25.1	131	184	191	244	274	735	1040
2-OH-PHEN	pg/mL	60	14.3	49.9	71.9	71.8	87.5	117	238	279
3-OH-PHEN	pg/mL	60	9.00	66.3	120	105	145	168	486	764
4-OH-PHEN	pg/mL	60	4.50	16.4	29.8	26.7	35.4	45	99	118
1-OH-PYR	pg/mL	60	26.3	165	227	218	298	358	1005	1279
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	pg/mL	60	1911	11142	19760	19459	26521	33582	61336	149324
1-OH-NAP	ng/g creatinina	60	125	338	1552	1512	5340	6553	20951	68124
2-OH-NAP	ng/g creatinina	60	1273	6288	11032	10756	14074	17856	35990	74760
2-OH-FLU	ng/g creatinina	60	82.7	158	285	357	589	773.5	1993	3070
3-OH-FLU	ng/g creatinina	60	5.70	52.1	100	145	449	473	2170	3601
9-OH-FLU	ng/g creatinina	60	52.0	157	223	243	319	428	1017	1168
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	60	36.8	90.6	141	154	197	248	620	724
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	60	16.3	33.9	60.8	58.0	71.3	98.0	160	210
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	60	17.3	53.3	75.3	85.0	113	129	375	490
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	60	2.64	12.8	22.5	21.5	28.6	38.3	79.3	95.3
1-OH-PYR	ng/g creatinina	60	40.3	105	142	176	238	357	578	1226
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	ng/g creatinina	60	3605	7783	16200	15707	21418	27764	55273	85893

(Continua)

(Tabella 5. Continuazione 2)

	Unità di misura	N	X _{MIN}	P ₂₅	P ₅₀	GM	Media	P ₇₅	P ₉₅ ^a	X _{MAX}
Controlli										
Creatinina	g/L	59	0.42	0.91	1.49	1.32	1.48	1.99	2.80	3.00
Cotina	µg/g creatinina	59	8.00	8.00	1568	266	2455	5009	7069	7632
1-OH-NAP	pg/mL	59	7.20	456	4647	2609	9390	15659	26354	87101
2-OH-NAP	pg/mL	59	581	6054	13923	11706	18481	20764	67631	107442
2-OH-FLU	pg/mL	59	49.5	171	578	524	1070	1419	3271	8987
3-OH-FLU	pg/mL	59	8.90	57.0	325	239	733	1201	2300	7402
9-OH-FLU	pg/mL	59	64.8	138	341	301	394	500	836	1897
1-OH-PHEN	pg/mL	59	39.1	120	198	195	262	331	622	1339
2-OH-PHEN	pg/mL	59	8.8	37.0	71.3	66.2	91.1	102	283	436
3-OH-PHEN	pg/mL	59	15.0	60.5	137	114	176	187	754	798
4-OH-PHEN	pg/mL	59	3.10	11.2	32.0	29.2	49.6	49.6	161	361
1-OH-PYR	pg/mL	59	33.1	109	247	239	374	466	1072	3469
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	pg/mL	59	868	8981	18879	19595	31021	46746	105479	152895
1-OH-NAP	ng/g creatinina	59	16.0	386	3362	1983	6130	9263	23270	47337
2-OH-NAP	ng/g creatinina	59	1291	5143	9210	8899	12797	14025	42209	75681
2-OH-FLU	ng/g creatinina	59	85.4	141	344	398	723	997	2610	5349
3-OH-FLU	ng/g creatinina	59	16.8	50.5	173	181	488	775	1775	4406
9-OH-FLU	ng/g creatinina	59	55.3	134	227	229	298	322	1091	1650
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	59	55.0	82.1	139	148	179	237	397	797
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	59	11.5	30.5	47.9	50.3	64.4	79.2	206	260
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	59	15.5	46.9	83.5	87.0	118	152	374	452
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	59	3.68	10.6	21.0	22.2	34.3	43.7	130	169
1-OH-PYR	ng/g creatinina	59	57.0	112	152	182	247	307	570	2065
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	ng/g creatinina	59	1928	8285	16635	14895	21078	27822	57326	91009

(Continua)

(Tabella 5. Continuazione 3)

	Unità di misura	N	X _{MIN}	P ₂₅	P ₅₀	GM	Media	P ₇₅	P ₉₅ ^a	X _{MAX}
Non fumatrici										
Creatinina	g/L	63	0.41	0.750	1.28	1.22	1.38	1.89	2.56	3.00
Cotina	µg/g creatinina	63	7.40	8.00	8.00	10.3	15.5	9.0	36.0	178
1-OH-NAP	pg/mL	63	7.20	319	525	624	4835	1055	6865	133523
2-OH-NAP	pg/mL	63	581	6054	9942	9075	13123	16696	40692	49949
2-OH-FLU	pg/mL	63	47.1	154	219	209	269	341	573	1366
3-OH-FLU	pg/mL	63	3.00	38.5	74.5	61.0	84.9	114	173	431
9-OH-FLU	pg/mL	63	27.6	135	224	222	288	346	782	1261
1-OH-PHEN	pg/mL	63	25.1	90	144	139	173	218	368	774
2-OH-PHEN	pg/mL	63	8.80	30.6	55.3	52.5	65.5	88.5	150	238
3-OH-PHEN	pg/mL	63	9.00	35.5	74.9	67.6	87.1	125	175	220
4-OH-PHEN	pg/mL	63	3.10	9.9	19.5	18.2	26.3	33.5	85.7	131
1-OH-PYR	pg/mL	63	26.3	80.2	172	142	176	240	363	546
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	pg/mL	63	868	7943	12187	12440	19126	19887	50852	149324
1-OH-NAP	ng/g creatinina	63	16.0	231	356	513	2735	1014	7355	68124
2-OH-NAP	ng/g creatinina	63	1273	4532	7419	7458	10952	11899	35990	75681
2-OH-FLU	ng/g creatinina	63	82.7	115	159	171	199	230	470	794
3-OH-FLU	ng/g creatinina	63	5.70	32.9	52.2	50.1	61.6	78.9	144	251
9-OH-FLU	ng/g creatinina	63	52.0	117	181	182	242	243	994	1168
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	63	36.8	79.6	105	114	135	154	295	624
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	63	11.5	28.3	39.4	43.2	52.2	66.7	127	161
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	63	15.5	38.5	54.9	55.6	64.1	77.8	129	240
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	63	2.64	8.12	15.3	15.0	20.7	25.7	66	95
1-OH-PYR	ng/g creatinina	63	40.3	88.5	115	117	134	146	288	541
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	ng/g creatinina	63	1928	5809	9826	10223	14595	17058	46495	77893

(Continua)

(Tabella 5. Continuazione 4)

	Unità di misura	N	X _{MIN}	P ₂₅	P ₅₀	GM	Media	P ₇₅	P ₉₅ ^a	X _{MAX}
Fumatrici										
Creatinina	g/L	56	0.40	0.950	1.56	1.35	1.49	1.96	2.40	2.80
Cotina	µg/g creatinina	56	308	3149	4566	3853	4368	5714	7150	7632
1-OH-NAP	pg/mL	56	619	5587	11529	9150	11986	16782	25598	35151
2-OH-NAP	pg/mL	56	3521	12847	18010	17909	22961	23477	67631	107442
2-OH-FLU	pg/mL	56	140	809	1245	1231	1603	1955	3654	8987
3-OH-FLU	pg/mL	56	30.2	432	845	821	1268	1647	3746	7402
9-OH-FLU	pg/mL	56	125	313	447	425	487	610	836	1897
1-OH-PHEN	pg/mL	56	54.9	183	260	279	344	423	924	1339
2-OH-PHEN	pg/mL	56	16.3	60.5	89.9	93.7	116	139	283	436
3-OH-PHEN	pg/mL	56	40.9	120	170	189	242	320	759	798
4-OH-PHEN	pg/mL	56	4.50	28.0	42.7	44.9	60.6	76.4	161	361
1-OH-PYR	pg/mL	56	59.2	244	382	390	515	627	1279	3469
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	pg/mL	56	4781	22229	33239	32426	39582	48219	92454	152895
1-OH-NAP	ng/g creatinina	56	441	4004	7638	6794	9103	12357	22917	24945
2-OH-NAP	ng/g creatinina	56	3771	9194	12057	13299	16241	20898	42209	74760
2-OH-FLU	ng/g creatinina	56	189	545	934	914	1170	1548	3044	5349
3-OH-FLU	ng/g creatinina	56	40.8	276	720	609	926	1252	2445	4406
9-OH-FLU	ng/g creatinina	56	67.6	210	296	316	383	460	1044	1650
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	56	66.6	135	218	208	248	321	620	797
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	56	14.0	48.2	65.2	69.6	85.5	118.9	210	260
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	56	21.1	88.7	132	140	173	225	382	490
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	56	10.1	19.6	29.3	33.4	43.5	57.6	130	169
1-OH-PYR	ng/g creatinina	56	79.7	169	310	289	364	472	694	2065
Σ ₁₀ OH-PAH ^b	ng/g creatinina	56	5179	16554	24357	24079	28736	37318	56200	91009

(a) Stima indicativa a causa del numero limitato di dati.

(b) Somma medium bound di 1-OH-NAP, 2-OH-NAP, 2-OH-FLU, 3-OH-FLU, 9-OH-FLU, 1-OH-PHE, 2-OH-PHE, 3-OH-PHE, 4-OH-PHE, 1-OH-PYR.

Tabella 6. Test di Mann-Whitney fra le concentrazioni di OH-IPA misurati nelle donne con endometriosi e nei controlli. In rosso i risultati significativi ($p < 0.05$).

		Rank Sum Controlli	Rank Sum Casi	U	Z	p-level	Valid N Controlli	Valid N Casi
Creatinina	g/L	3487	3654	1657	-0,6033	0,5463	60	59
Cotina	µg/g creatinina	3200	3940	1370	-2,1260	0,0335	60	59
1-OH-NAP	ng/g creatinina	3431	3709	1601	-0,8982	0,3691	60	59
2-OH-NAP	ng/g creatinina	3851	3289	1519	1,3341	0,1822	60	59
2-OH-FLU	ng/g creatinina	3541	3599	1711	-0,3136	0,7538	60	59
3-OH-FLU	ng/g creatinina	3493	3647	1663	-0,5687	0,5696	60	59
9-OH-FLU	ng/g creatinina	3672	3468	1698	0,3827	0,7020	60	59
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	3664	3476	1706	0,3402	0,7337	60	59
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	3844	3296	1526	1,2969	0,1947	60	59
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	3546	3594	1716	-0,2870	0,7741	60	59
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	3598	3542	1768	-0,0106	0,9915	60	59
1-OH-PYR	ng/g creatinina	3565	3575	1735	-0,1860	0,8524	60	59
Σ ₁₀ OH-PAH	ng/g creatinina	3627	3513	1743	0,1435	0,8859	60	59

Tabella 7. Test di Mann-Whitney fra le concentrazioni di OH-IPA misurati nelle donne fumatrici e non fumatrici. In rosso i risultati significativi ($p < 0.05$).

		Rank Sum Controlli	Rank Sum Casi	U	Z	p-level	Valid N Controlli	Valid N Casi
Creatinina	g/L	3572	3568	1552	1,1287	0,2590	56	63
Cotina	µg/g creatinina	5124	2016	0,000	9,3915	0,0000	56	63
1-OH-NAP	ng/g creatinina	4878	2262	246	8,0818	0,0000	56	63
2-OH-NAP	ng/g creatinina	4137	3003	987	4,1367	0,0000	56	63
2-OH-FLU	ng/g creatinina	5018	2122	106	8,8271	0,0000	56	63
3-OH-FLU	ng/g creatinina	5037	2103	87	8,9283	0,0000	56	63
9-OH-FLU	ng/g creatinina	4244	2896	880	4,7064	0,0000	56	63
1-OH-PHEN	ng/g creatinina	4325	2815	799	5,1376	0,0000	56	63
2-OH-PHEN	ng/g creatinina	4075	3065	1049	3,8066	0,0001	56	63
3-OH-PHEN	ng/g creatinina	4657	2483	467	6,9052	0,0000	56	63
4-OH-PHEN	ng/g creatinina	4297	2843	827	4,9886	0,0000	56	63
1-OH-PYR	ng/g creatinina	4635	2505	489	6,7881	0,0000	56	63
Σ ₁₀ OH-PAH	ng/g creatinina	4457	2683	667	5,8404	0,0000	56	63

Tabella 8. Statistica descrittiva inerente OH-IPA urinari in donne selezionate fra la popolazione residente nei pressi del termovalorizzatore della provincia di Torino (Gerbido). Campionamento Giugno–Luglio 2013.

	N	X _{MIN}	P ₂₅	P ₅₀	GM	Media	P ₇₅	P ₉₅	X _{MAX}
<i>Dati espressi in pg/mL</i>									
1-OH-NAP	176	99.3	371	725	1080	3560	2540	14300	108000
2-OH-NAP	177	196	1830	3440	3950	6620	8610	20700	65200
2-OH-FLU	177	4.61 c	94.2	157	177	311	280	1180	2910
3-OH-FLU	177	5.65 c	28.6	54.8	68.0	180	107	948	2220
9-OH-FLU	177	68.3	216	369	371	477	601	1230	2380
1-OH-PHEN	177	12.4 c	71.6	130	122	155	200	359	964
2-OH-PHEN	177	7.10 c	33.4	54.2	52.6	66.4	82.6	163	560
3-OH-PHEN	177	18.7	49.4	73.3	79.0	105	126	243	1220
4-OH-PHEN	177	13.7 c	13.7	13.7	22.9	30.7	38.5	80.8	232
1-OH-PYR	177	10.6 c	40.6	67.6	70.0	111	106	286	2560
Σ ₁₀ OH-PAH b	177	792	3210	5980	6790	11600	13300	43500	120000
<i>Dati espressi in ng/g creatinina</i>									
1-OH-NAP	176	202	524	959	1370	3720	2540	15300	76800
2-OH-NAP	177	456	2570	4720	5000	7150	8970	20800	46300
2-OH-FLU	177	3.25 c	128.0	180	224	352	295	1280	2980
3-OH-FLU	177	7.45 c	42.7	59.8	86.1	199	128	994	2110
9-OH-FLU	177	89.9	311	470	469	562	698	1320	2850
1-OH-PHEN	177	28.8 c	110.0	144	154	180	222	376	909
2-OH-PHEN	177	9.60 c	49.6	65.3	66.5	78.2	91.0	177	528
3-OH-PHEN	177	24.6	71.2	96.3	99.9	121	127	293	1150
4-OH-PHEN	177	7.45 c	18.8	28.5	29.0	36.5	42.5	89.4	219
1-OH-PYR	177	11.7 c	56.9	83.1	88.6	125	129	330	2420
Σ ₁₀ OH-PAH	177	1840	4640	7320	8600	12500	16100	42200	85200

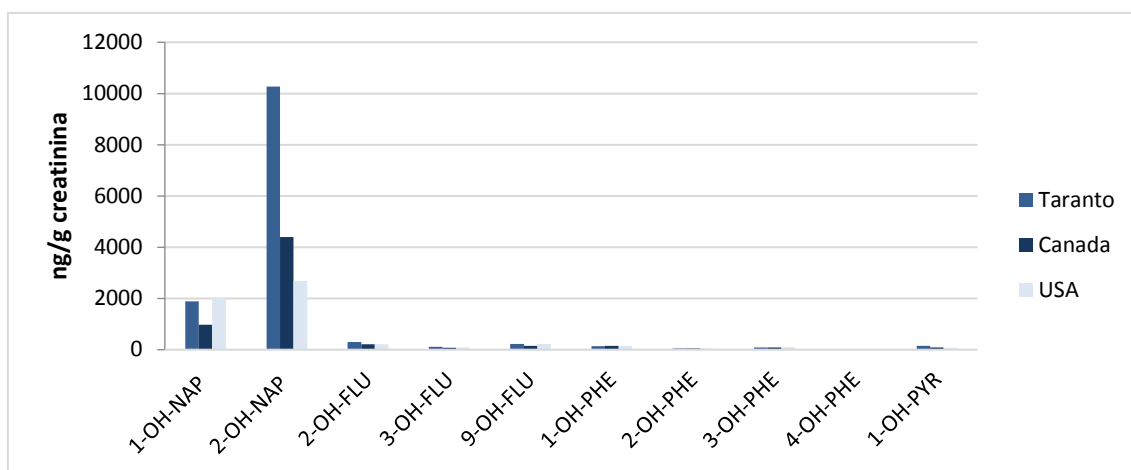


Figura 1. OH-IPA urinari (P_{50}) misurati nelle donne di Taranto e confronto con i risultati (P_{50}) ottenuti in studi analoghi In Canada (Health Canada, 2015) e in USA (CDC, 2012). In entrambi questi studi, i valori di concentrazione (P_{50}) riportati per i singoli metaboliti sono stati calcolati su un numero di dati variabile in funzione del metabolita stesso. Per il metabolita a maggiore abbondanza (2-OH-NAP) si ha N=1266 (età: 3-79 anni) nello studio effettuato in Canada, e N=1342 (età: >6 anni) nello studio effettuato negli USA

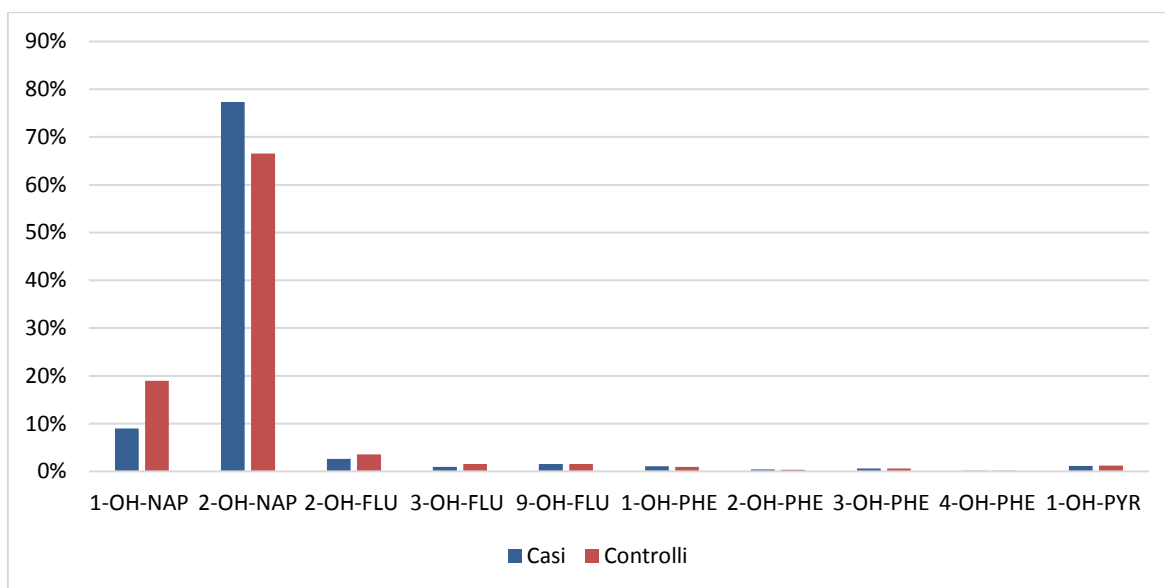


Figura 2. Profili di contaminazione composto-specifici di OH-IPA nelle donne di Taranto (casi e controlli). I profili sono espressi come percentuale relativa di ciascun composto (P_{50}) rispetto alla somma degli OH-IPA analizzati (P_{50}).

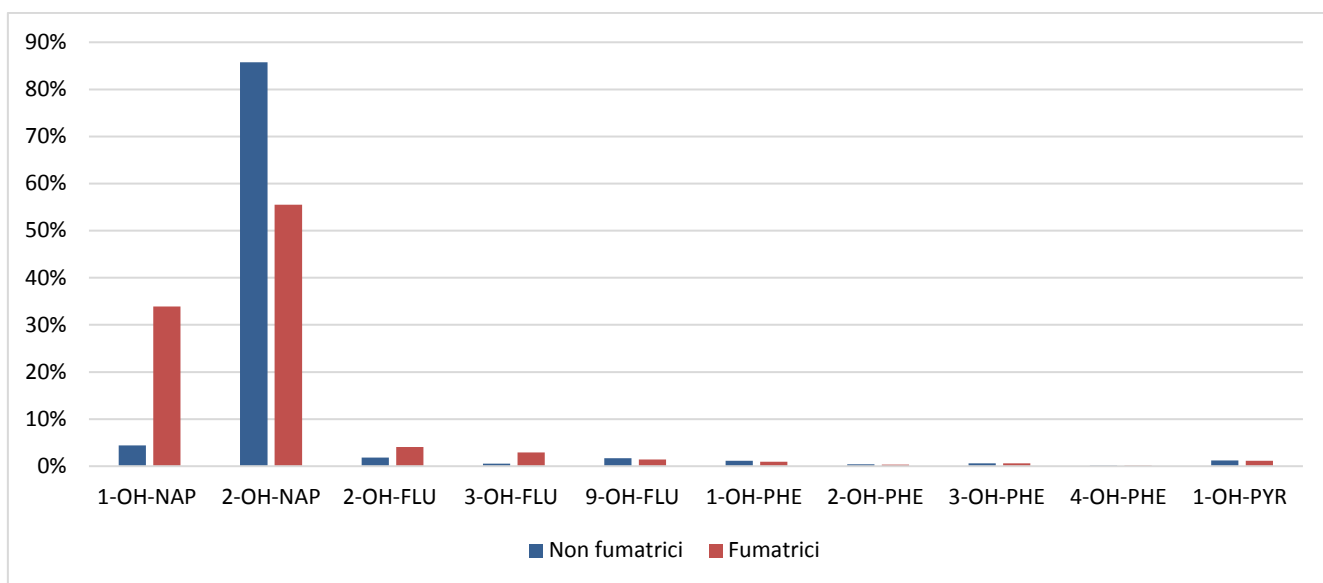


Figura 3. Profili di contaminazione composto-specifici di OH-IPA nelle donne di Taranto (non fumatrici e fumatrici). I profili sono espressi come percentuale relativa di ciascun composto (P_{50}) rispetto alla somma degli OH-IPA analizzati (P_{50}).

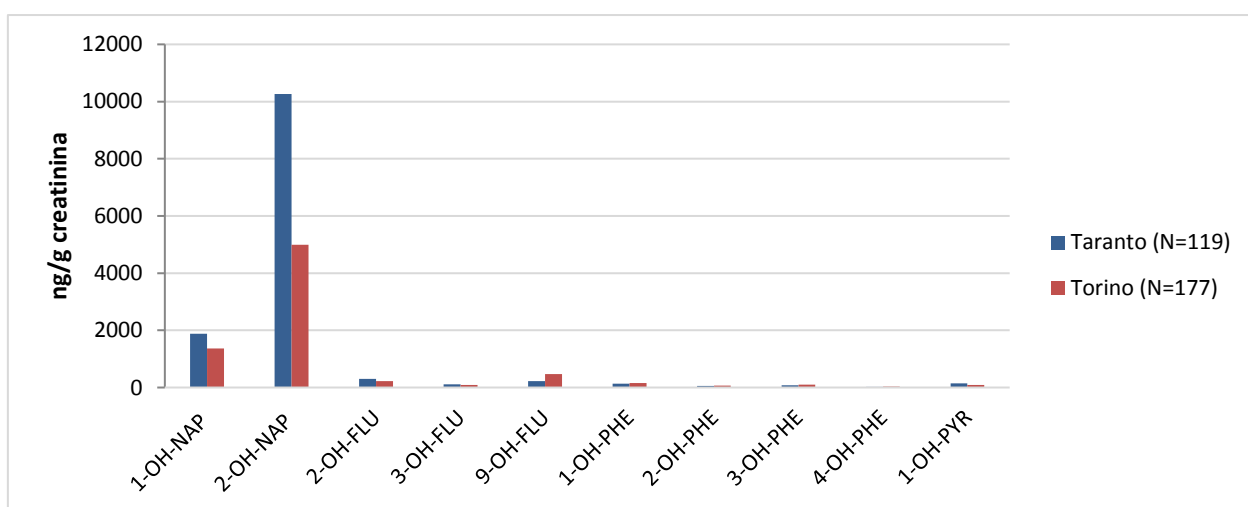


Figura 4. OH-IPA urinari misurati nelle donne di Taranto e nelle donne residenti in prossimità del termovalorizzatore di rifiuti di Torino prima della sua entrata in funzione (http://www.dors.it/spott_home.php).

ATTIVITÀ DI ANALISI GENETICA SVOLTA DAL REPARTO DI MECCANISMI DI TOSSICITÀ DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

I campioni di sangue ricevuti dalla ASL di Taranto (n=121) sono stati processati per l'estrazione e la quantificazione del DNA mediante uso di Kit commerciali e analisi spettrofotometrica. Successivamente si è proceduto all'analisi dei polimorfismi di tre isoforme della glutathione-S-Trasferasi: GST-M1, GST-T1 e GST-P1, che in uno studio precedente avevano mostrato di poter determinare una interazione gene-ambiente, se incrociate con livelli medio-alti di esposizione ai PCB totali e ad alcuni congeneri nello specifico (1). Le frequenze dei polimorfismi della GST nella popolazione generale sono tali da garantire un potere statistico sufficiente nonostante il numero limitato di casi e controlli arruolati. Non è stato possibile inserire altri polimorfismi, in quanto la bassa frequenza nella popolazione generale non consente di fare elaborazioni statistiche adeguate con la numerosità raggiunta.

METODI:

Analisi del polimorfismo *GSTM1* and *GSTT1*

L'analisi della presenza del polimorfismo nullo in omozigosi delle *GSTM1* e *GSTT1* (-/- o m/m) è stata effettuata simultaneamente mediante multiplex PCR come descritto in precedenza (2). L'assenza di prodotti di PCR indicava che i geni erano deleti su entrambi gli alleli: - (-/- o m/m). La presenza di prodotti di PCR indicava la presenza di almeno una copia del gene: + (+/- o +/+).

Analisi del polimorfismo *GSTP1*^{Ile/Val} (rs1695)

Il polimorfismo della *GSTP1* (rs1695) è stato analizzato mediante Realtime PCR utilizzando uno specifico TaqMan® SNP genotyping assay (Thermofisher assay C_3237198_20) su StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems).

I possibili genotipi determinati sono stati w/w o wild type; w/m o eterozigote e m/m o omozigote per la mutazione.

RISULTATI:

I risultati della distribuzione dei tre polimorfismi nei soggetti analizzati sono descritti in **Tabella 1**.

Tabella 1: Distribuzione dei singoli genotipi GSTM1, GSTT1 e GSTP1 (rs1695)

polimorfismo genetico	Casi		Controlli		OR	95% CI
	No.	%	No.	%		
GSTM1						
+	24	39%	30	50%	0.65	0.31-1.33
-	37	61%	30	50%		
GSTT1						
+	46	75%	50	82%	0.61	0.25-1.50
-	15	25%	10	18%		
GSTP1						
w/w	36	59%	26	43%	1.89	0.87-4.12
w/m	19	31%	26	43%		
m/m	6	10%	8	13%		
w/w + w/m	55		52		1.41	0.46-4.34
w/m + m/m	25		34		1.88	0.91– 3.88

Anche in considerazione della limitata numerosità dei campioni (è stato raggiunto il numero minimo previsto di soggetti arruolati), è stata verificata la rappresentatività della popolazione, attraverso lo studio della differenza tra la distribuzione attesa ed osservata dei genotipi. Per la distribuzione del genotipo *GSTP1*, è stato verificato che la distribuzione fosse in accordo con l'equilibrio di Hardy-Weinberg è stato utilizzato il test del χ^2 considerando statisticamente significativo un valore di $p \leq 0.05$.

Sia la popolazione dei casi che quella dei controlli sono risultate in equilibrio ($p=0.379$ e $p=0.999$, rispettivamente).

Per le *GSTM1* and *GSTT1* non è possibile, con il protocollo di genotipizzazione utilizzato, distinguere le frequenze dell'eterozigote per la mutazione; di conseguenza non è stato possibile verificare la concordanza con l'equilibrio di Hardy-Weinberg. Tuttavia la distribuzione delle frequenze nella popolazione di controllo è in totale accordo con le frequenze misurate in Italia dal nostro gruppo in studi precedenti (1, 2) che presentavano una numerosità più elevata e con i dati di letteratura. A supporto della corretta distribuzione e conseguentemente della rappresentatività del gruppo arruolato, è stato eseguito il test del χ^2 per evidenziare eventuali differenze tra la popolazione di Taranto (questo studio) e quella di uno studio analogo a Roma (2) come mostrato in **Tabella 2** :

Tabella 2: Confronto della distribuzione dei genotipi di: GSTM1, GSTT1 e GSTP1 (rs1695) fra le popolazioni di controllo di Taranto e Roma

Gene Polymorphism		Taranto	Roma	χ ²	p
		%	%		
GSTM1					
	+	50%	48%	0.08	0.777
	-	50%	52%		
GSTT1					
	+	82%	89%	0.976	0.1598
	-	18%	11%		
GSTP1					
	w/w	43%	42%		
	w/m	43%	48%		
	m/m	13%	10%		

I risultati indicano che non ci sono differenze significative nella distribuzione dei polimorfismi della GSTM1 e GSTT1. Anche per il polimorfismo della GSTP1, per il quale come era già stata verificato il rispetto dell'equilibrio di Hardy-Weinberg, il confronto delle frequenze alleliche della "mutazione" (presenza di almeno un allele mutante *m*) e dell'allele wild type (*w*), non mostra alcuna differenza significativa tra la popolazione arruolata a Taranto e a Roma ($\chi^2=0.0221$ $p \leq 0.882$).

Anche la frequenza nella popolazione dei portatori di entrambe le delezioni dei geni M1 e T1 (-/-) è nell'ordine di grandezza dei dati disponibili (Tabella 3), tuttavia la limitata numerosità non permette di trarre conclusioni sufficientemente robuste.

Tabella3: Frequenza nella popolazione dei portatori di entrambe le delezioni dei geni M1 e T1 (-/-)

Gene Polymorphism	Cases		Controls		OR	95% CI
	No.	%	No.	%		
GSTM1 e T1						
+	16		24		6.6	0.26 0.07-1.05
-	7	11.5	4			

Tabella4: Rischio relativo di Endometriosi per i soggetti con livello medio alto di contaminanti rispetto a quelli con livello basso stratificato in base ai polimorfismi genetici (GSTM1, GSTT1 e GSTP1).

Contaminante	Polimorfismo	OR	Intervallo di confidenza 95%		
TotTE05	GSTM1+	4.38	1.20	–	15.91
	GSTM1-	1.88	0.68	–	5.21
PCDD+PCDF05	GSTM1+	3.82	1.05	–	13.94
	GSTM1-	1.64	0.60	–	4.49
DL-PCB05	GSTM1+	2.29	0.71	–	7.41
	GSTM1-	1.25	0.45	–	3.47
NDL6-PCB	GSTM1+	3.80	1.12	–	12.84
	GSTM1-	1.43	0.51	–	4.03
NDL-PCB	GSTM1+	3.33	0.98	–	11.25
	GSTM1-	1.64	0.59	–	4.58
TotTE05	GSTT1+	2.34	0.98	–	5.64
	GSTT1-	4.00	0.68	–	23.51
PCDD+PCDF05	GSTT1+	2.16	0.90	–	5.21
	GSTT1-	2.75	0.51	–	14.86
DL-PCB05	GSTT1+	1.21	0.51	–	2.84

	GSTT1-	6.00	1.00	–	35.91
NDL6-PCB	GSTT1+	1.93	0.81	–	4.57
	GSTT1-	4.00	0.68	–	23.51
NDL-PCB	GSTT1+	1.93	0.81	–	4.57
	GSTT1-	4.00	0.68	–	23.51
TotTE05	GSTP1 w/m, m/m	1.10	0.38	–	3.21
	GSTP1 w/w	6.46	1.93	–	21.69
PCDD+PCDF05	GSTP1 w/m, m/m	1.59	0.52	–	4.85
	GSTP1 w/w	3.13	1.05	–	9.34
DL-PCB05	GSTP1 w/m, m/m	0.69	0.24	–	2.00
	GSTP1 w/w	3.87	1.21	–	12.35
NDL6-PCB	GSTP1 w/m, m/m	1.68	0.57	–	4.94
	GSTP1 w/w	2.75	0.89	–	8.51
NDL-PCB	GSTP1 w/m, m/m	1.89	0.64	–	5.54
	GSTP1 w/w	2.35	0.75	–	7.35

Una volta verificata la rappresentatività della popolazione arruolata, è stata analizzata la differenza di distribuzione dei genotipi tra i casi e i controlli per capire l'associazione tra polimorfismi genetici e insorgenza di endometriosi calcolando il rischio relativo o Odd Ratio (OR). I risultati riportati in **Tabella 1** mostrano che la sola presenza di uno specifico genotipo in GSTM1, GSTT1 e GSTP1 non provoca un significativo aumento di rischio di sviluppare endometriosi (OR più elevato 1.88; nessuna significatività statistica)

Incrociando le concentrazioni di contaminanti nel siero con il profilo genetico, si osserva una tendenza a un aumento significativo, seppur contenuto, del rischio relativo (OR) di endometriosi in presenza di specifici genotipi nei soggetti con livelli medio alti di contaminanti rispetto a quelli con livelli bassi (Tabella 4).

In particolare, per Tot TE si era già osservato per le donne con livelli medio-alti un aumento del rischio relativo di endometriosi (OR=2.61) che in presenza del genotipo GSTPM1+ diviene pari a 4.38 e in presenza di GSTP1 w/w diviene 6.46.

Analogamente, per PCDD+PCDF l'aumento del rischio relativo per le donne con livelli medio-alti (OR=2.23) in presenza del genotipo GSTPM1+ diviene pari a 3.82, mentre in presenza di GSTP1 w/w diviene 3.13

Prendendo in considerazione NDL6-PCB, l'osservato aumento del rischio relativo per le donne con livelli medio-alti (OR=2.28) in presenza del genotipo GSTPM1+ diviene pari a 3.80.

L' aumento del rischio relativo di endometriosi per DL-PCB nelle donne con livelli medio-alti (OR=1.64, non significativo) in presenza di GSTP1 w/w diviene 3.87.

Non si osserva una tendenza significativa all'aumento del rischio relativo di endometriosi legata al livello di contaminanti stratificando per genotipo GSTT1.

Risultati analoghi erano stati evidenziati precedentemente in una popolazione di donne residenti a Roma (2).

CONCLUSIONI

I risultati mostrano che nella popolazione esaminata di donne in età riproduttiva residente a Taranto la sola presenza dei polimorfismi della GSTM1, GSTT1 e della GSTP1 non provoca un significativo aumento di rischio di sviluppare endometriosi, in accordo con quanto rilevato in uno studio precedente su donne residenti a Roma (2).

Per valutare la presenza di una interazione fra livelli espositivi e presenza di polimorfismi, i risultati della genotipizzazione sono stati incrociati con i livelli di PCDD e PCDF (diossine) e PCB misurati nel siero dei singoli soggetti.

L'aumento del rischio relativo di endometriosi (relativo al gruppo di donne con livelli medio alti di contaminanti rispetto a quelle con livelli bassi) individuato sulla base dei soli dati di contaminazione del siero mostra una tendenza all'incremento in presenza dei genotipi specifici GSTM1⁺ e GSTP1 w/w, nei limiti della numerosità campionaria considerata.

Il genotipo GSTT1 non è associato a modifiche del rischio relativo dovuto alla sola esposizione di qualunque inquinante analizzato.

Questi risultati sono in accordo, per quanto riguarda l'influenza del genotipo GSTP1w/w associato ai livelli di contaminanti sul rischio relativo di endometriosi, con quanto osservato

dal nostro gruppo in un analogo studio precedente su un gruppo di donne residenti a Roma (2).

Referenze

1) D. Palli, C. Saieva, S. Gemma, G. Masala, M. J. Gomez-Miguel, I. Luzzi, M. D'Errico, G. Matullo, G. Ozzola, F. Sera, I. Zanna, E. Dogliotti and E. Testai GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms and gastric cancer in a high-risk Italian population. *Int. J. Cancer* 115, 284-289 (2005).

2) S. Vichi, E. Medda, A.M. Ingelido, M.G. Porpora, A. Ferro, S. Resta, L. Nisticò, A. Abballe, E. De Felip, S. Gemma and E. Testai Genetic polymorphisms of Glutathione Transferases and exposure to PCBs in the susceptibility to endometriosis: A gene-environment interaction. *Fertility and Sterility* 97, 1143-1151 (2012).

CONCLUSIONI GENERALI DELL'OBIETTIVO 2

I risultati dello studio evidenziano concentrazioni di PCDD, PCDF, DL-PCB e NDL-PCB in linea con i valori osservati in un recente studio su gruppi di donne della popolazione generale italiana con caratteristiche confrontabili a quelle del presente studio.

Analogamente a quanto osservato precedentemente in una popolazione di donne residenti a Roma, le concentrazioni di contaminanti nel siero risultano essere nel complesso più elevate nelle donne con endometriosi rispetto al gruppo di controllo. La differenza di concentrazione è statisticamente significativa per PCDD+PCDF+DL-PCB (Tot TE) e PCDD+PCDF. Stratificando per età tale differenza perde significatività per le donne di età >33 anni, mentre rimane significativa per le donne di età compresa fra 20 e 33 anni.

Livelli medio alti di concentrazione nel siero di Tot TE, PCDD+PCDF, NDL-PCB risultano associati, nei limiti della numerosità campionaria considerata, a un aumento di rischio relativo di endometriosi statisticamente significativo, seppur contenuto, rispetto ai livelli bassi; stratificando per età l'aumento di rischio permane per le donne di età compresa fra 20 e 33 anni e perde in significatività per quelle di età più alta.

Non si evidenziano associazioni fra la concentrazione di contaminanti e lo stadio dell'endometriosi nell'ambito di quelli considerati in nessuna delle due fasce di età considerate.

Negli stessi soggetti, la sola presenza di un polimorfismo di GSTM1, GSTT1 e GSTP1 non provoca un aumento significativo di rischio di sviluppare endometriosi. Tuttavia, incrociando le concentrazioni di contaminanti nel siero con il profilo genetico, si osserva, nei limiti della numerosità campionaria, una tendenza a un aumento significativo, seppur contenuto, del rischio relativo (OR) di endometriosi rispetto all'aumento di rischio già osservato considerando i soli dati di contaminazione del siero. Tale incremento si osserva nei soggetti con livelli medio alti di contaminanti (Tot TE, PCDD+PCDF, NDL-PCB) rispetto a quelli con livelli bassi, in presenza dei genotipi GSTM1+ e GSTP1 w/w.

Risultati simili erano stati osservati in un analogo studio precedente su un gruppo di donne residenti a Roma.

Il genotipo GSTT1 non è associato a modifiche del rischio relativo di endometriosi in relazione alla concentrazione di qualunque inquinante analizzato.

Per quanto riguarda gli OH-IPA, i risultati dello studio evidenziano, per tutti i metaboliti considerati, l'assenza di differenze di concentrazione statisticamente significative tra le donne con endometriosi e il gruppo di controllo.

Come atteso, i livelli di OH-IPA nel gruppo delle fumatrici sono significativamente più elevati rispetto a quelli determinati nelle non fumatrici.

Il confronto con i risultati di uno studio condotto su un gruppo di donne residenti a Torino evidenzia, nell'intero gruppo delle donne del presente studio, concentrazioni significativamente più elevate per quasi tutti gli OH-IPA analizzati. Dopo stratificazione per abitudine al fumo, rimangono fortemente significative nelle non fumatrici dei due studi le differenze di concentrazione di 2-OH-NAP, 1-OH-PYR e la somma Σ_{10} OH-IPA.

Questa osservazione suggerisce l'opportunità di approfondire la conoscenza del contesto espositivo a idrocarburi policiclici aromatici delle donne residenti a Taranto, pur non evidenziando il presente studio una correlazione tra esposizione a questi inquinanti e la patologia investigata.