

GLIFOSATE, LO STUDIO DELL'ISTITUTO RAMAZZINI

L'ISTITUTO RAMAZZINI STA CONDUENDO UNO STUDIO SUGLI EFFETTI DELLA SOMMINISTRAZIONE ORALE DI GLIFOSATE E ROUNDUP, ALLA DOSE RITENUTA SICURA PER L'UOMO, IN RATTI SPRAGUE-DAWLEY. I PRIMI RISULTATI, GIÀ PRESENTATI IN PUBBLICO, MOSTRANO EFFETTI CHE GIUSTIFICANO LA PROSECUZIONE DELL'INDAGINE A LUNGO TERMINE.

In occasione della conferenza DiMoPEx¹ svoltasi il 30 e 31 ottobre scorsi a Bentivoglio presso il Centro di ricerca sul cancro Cesare Maltoni (Crcm) dell'Istituto Ramazzini (IR), proprio per le importanti ricadute degli studi sperimentali del Centro, è stato richiesto all'IR di presentare in anteprima i risultati relativi allo studio pilota di tossicità sub-cronica sugli effetti della somministrazione (in acqua da bere) di glifosate e Roundup® in ratti Sprague Dawley (SD). Per la conduzione dello studio l'IR si è avvalso di un'autorevole rete di partner, quali l'Università di Bologna (Facoltà di Agraria, Veterinaria e Biostatistica), l'Istituto tumori di Genova, l'Istituto superiore di sanità, la Mount Sinai School of Medicine e la George Washington University. Il tema dell'esposizione ambientale e occupazionale a glifosate e ai suoi formulati commerciali, come il Roundup®, rimane di estrema attualità e interesse, sia politico che scientifico, alla

luce della recente decisione (novembre 2017) degli Stati membri dell'Unione europea di rinnovare per 5 anni la licenza per l'uso del glifosate come sostanza attiva negli erbicidi. In Italia resta comunque *il divieto*, introdotto dal ministero della Salute ad agosto 2016, "di uso del glifosate nelle aree frequentate dalla popolazione o da gruppi vulnerabili, quali parchi, giardini, campi sportivi e zone ricreative, aree gioco per bambini, cortili ed aree verdi interne a complessi scolastici e strutture sanitarie, ma anche in campagna in pre-raccolta al solo scopo di ottimizzare il raccolto o la trebbiatura".

Disegno sperimentale dello studio sul glifosate

L'industria e le autorità regolatorie affermano che siamo esposti solo a livelli "sicuri" di glifosate e Roundup, e che questi non causano effetti tossici.

Si afferma che i livelli di sicurezza sono stati determinati da test di tossicità su animali da laboratorio. Un crescente numero di studi indipendenti indica però che i test svolti finora non sono adeguati per determinare gli effetti tossici dei residui (basse e bassissime dosi) di glifosate e di Roundup nel cibo e nell'acqua da bere e che il consumo di questi residui può comportare un rischio per la salute. L'industria e le autorità regolatorie affermano inoltre che gli effetti tossici del glifosate e Roundup rilevati con dosi medio-alte negli studi su animali, anche se indicassero un potenziale rischio, non sarebbero rilevanti per l'uomo perché la popolazione umana è esposta solo a livelli molto bassi e "sicuri", che non possono quindi comportare alcun pericolo per la salute umana.

Dobbiamo però considerare che le autorità regolatorie stabiliscono a tavolino i limiti di sicurezza per tutte le sostanze chimiche, basandosi quasi esclusivamente su dati provenienti da

| BT 5009_ generazione parentale (F0) | | | BT 5009_figli (F1) | | | | Trattamento ^b | | | Fine dell'esperimento | |
|-------------------------------------|---------|----|--------------------|----------------------|------------------|-------------------|--------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|--------------------|
| Gruppo | Animali | | Gruppo | Animali ^a | | | Composto | Dose ^c | Età all'inizio ^d | Coorte | |
| | Sex | N. | | Sex | Coorte | | | | | 6-settimane (PND) | 13-settimane (PND) |
| | | | | | 6-settimane (N.) | 13-settimane (N.) | | | | | |
| I | F | 8 | I | F | 8 | 10 | Acqua da bere | 0 | GD6 | 70 ^e | 120 ^f |
| | M | 8 | | M | 8 | 10 | | | | | |
| | F+M | 16 | | M+F | 16 | 20 | | | | | |
| II | F | 8 | II | F | 8 | 10 | Glifosate | USA ADI | GD6 | 70 ^e | 120 ^f |
| | M | 8 | | M | 8 | 10 | | | | | |
| | F+M | 16 | | M+F | 16 | 20 | | | | | |
| III | F | 8 | III | F | 8 | 10 | Roundup® | USA ADI Glifosate equivalente | GD6 | 70 ^e | 120 ^f |
| | M | 8 | | M | 8 | 10 | | | | | |
| | F+M | 16 | | F+M | 16 | 20 | | | | | |
| TOTALE | M+F | 48 | | M+F | 48 | 60 | | | | | |

^a Non più di 2 fratelli e sorelle per nidata

^b Le sostanze test sono state somministrate *ad libitum* nell'acqua da bere

^c Le dosi sono state calcolate considerando la ADI di Glifosate (1.75 mg/kg bw/day) degli Stati Uniti

^d Le soluzioni sono state somministrate alle madri a partire dal sesto giorno di gestazione (GD = giorno di gestazione)

^e Gli animali sono stati trattati fino al raggiungimento dello sviluppo sessuale corrispondente a circa 70 giorni dalla nascita (PND 70)

^f Gli animali sono stati trattati a partire dalla vita embrionale (GD 6) indirettamente tramite latte materno, fino allo svezzamento corrispondente circa al PND 28. Successivamente il trattamento è proseguito per 90 giorni, corrispondenti a circa 120 giorni dalla nascita (PND 120)

TAB. 1 - GLIFOSATE. Piano dello studio sperimentale sul glifosate condotto dall'Istituto Ramazzini (Bentivoglio, BO).

studi di tossicità su animali, eseguiti dall'industria produttrice; di solito il limite stabilito per l'uomo è 100 volte inferiore alla dose senza effetti nell'animale di laboratorio. Ne deriva che i limiti per l'uomo sono stabiliti senza che esistano prove sperimentali. Proprio per rispondere alla domanda: "le concentrazioni di glifosate ammesse come residuo nell'acqua e negli alimenti, e quindi come dose giornaliera nell'uomo, sono davvero sicure?", l'Istituto Ramazzini ha condotto uno studio "pilota", propedeutico a uno studio a lungo termine già da tempo programmato per i prossimi 5 anni. La dose utilizzata nello studio pilota è la dose giornaliera ammessa negli Stati Uniti per l'uomo, e cioè l'acceptable daily intake (ADI) di 1,75 mg/kg p.c./giorno. L'ADI viene definita come stima della quantità di una sostanza, presente nel cibo o nell'acqua da bere, espressa in base alla massa corporea, che può essere ingerita quotidianamente per tutta la vita da parte degli esseri umani senza comportare rischi rilevanti per la salute. Quindi la ADI è una dose considerata sicura.

Nello studio pilota il trattamento degli animali (ratti) è iniziato dal sesto giorno di gestazione tramite somministrazione della sostanza test alla madre (generazione F0) nell'acqua da bere *ad libitum*, tenendo in considerazione il peso dell'animale e la quantità di acqua bevuta individualmente. Alla nascita, i neonati (generazione F1) hanno continuato il trattamento attraverso il latte materno e successivamente, dopo lo svezzamento, il trattamento degli animali è proseguito in maniera individuale fino a 70 giorni dopo la nascita (PND 70) oppure fino a 120 giorni dalla nascita (PND 120). Questo periodo nel ratto corrisponde a un'esposizione nell'uomo dalla vita fetale fino a circa 18 anni. Nello studio sono stati approfonditi i seguenti aspetti scientifici:

- effetti sui parametri rilevabili in vivo (comportamento, accrescimento corporeo, consumo di acqua, consumo di cibo ecc.)
- effetti sullo sviluppo
- effetti sul sistema endocrino in relazione all'esposizione precoce nelle finestre di maggiore suscettibilità biologica, durante la vita fetale e la gestazione, per via indiretta attraverso la placenta con il latte materno, e quindi con esposizione diretta durante la crescita
- identificazione di possibili bio-marker espositivi nei tessuti o nei fluidi biologici
- lesioni istopatologiche negli organi bersaglio
- cambiamenti biomolecolari negli organi bersaglio

- cambiamenti nella composizione del microbioma intestinale.

Il piano sperimentale è presentato nella *tabella 1*. Nella *tabella 2* sono riassunti i principali parametri valutati e il gruppo di animali su cui sono effettuati.

Risultati finora disponibili

I risultati più rilevanti finora disponibili sono i seguenti:

- incremento statisticamente significativo della distanza ano-genitale nei maschi e nelle femmine trattati con Roundup® e nei maschi trattati con glifosate
- ritardo statisticamente significativo della prima ovulazione (corrispondente al menarca nella donna) nelle femmine trattate con Roundup®
- incremento statisticamente significativo della frequenza di micronuclei negli animali esposti a Roundup®
- variazioni del microbioma negli animali trattati con glifosate o con Roundup®

nella finestra di sviluppo corrispondente al periodo pre-puberale.

Questi dati sono già presentati e accettati per la pubblicazione su un'importante rivista del settore e dovrebbero essere disponibili per la fruizione pubblica con l'inizio del nuovo anno. Intanto, lo studio di altri parametri importanti - come la trascrittomico per la ghiandola mammaria, l'esame istopatologico di organi target (rene e fegato), lo studio dell'assetto ormonale nel sangue e le alterazioni cromosomiche dello sperma - sono ancora in corso.

Conclusioni e sviluppi di ricerca

Lo studio "pilota", proprio per le sue caratteristiche e finalità, non può chiarire le incertezze relative alla cancerogenicità del glifosate/Roundup® sollevate dalle diverse Agenzie (Iarc, Efsa, Echa) [1-4];

TAB. 2
GLIFOSATE

Parametri valutati nel corso dell'esperimento nelle diverse generazioni di animali sperimentali.

Fonte: Istituto Ramazzini

| PARAMETRI | F0 | F1 PND 70 | F1 PND 120 |
|--|----|--------------|---------------|
| Pesi e consumi acqua e cibo | X | X | X |
| Indici riproduttivi | X | - | - |
| Valutazione delle nidiate | - | X | X |
| Distanza ano-genitale (AGD) | - | X | X |
| Età e peso alla maturazione sessuale (V0/BPS) | - | X | X |
| Età al primo estro | - | X | - |
| Valutazione dell'andamento ciclo estrale | - | - | X |
| Analisi spermatica e aneuploidia | - | X | X |
| Istopatologia completa | - | X | X |
| Istopatologia parziale | X | - | - |
| Valutazione dei micronuclei | - | X | X |
| Analisi emato-biochimiche | - | X | X |
| Urinanalisi | - | X | X |
| Analisi di espressione genica organi target (ghiandole mammarie, fegato, reni) | X | X | X |
| Analisi del microbioma | X | X | X |

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. IARC Working Group, "Glyphosate", in *Some organophosphate insecticides and herbicides: diazinon, glyphosate, malathion, parathion, and tetrachlorvinphos*, Vol 112 IARC Monogr Prog, 2015:1-92.
2. European Food Safety Authority, *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate*, EFSA J 2015;13:4302.
3. European Food Safety Authority, *Final Addendum to the Renewal Assessment Report 2015*, <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/outputLoader?output=ON-4302>
4. European Chemicals Agency, *Global 2000's report on glyphosate*, July 2017, <https://echa.europa.eu/-/echa-s-opinion-on-classification-of-glyphosate-published>.
5. Manservigi F., Babot C.M., Buscaroli A., Huff J., Lauriola M., Mandrioli D., Manservigi M., Panzacchi S., Silbergeld E.K., Belpoggi F., "An Integrated Experimental Design for the Assessment of Multiple Toxicological End Points in Rat Bioassays", *Environ Health Perspect.*, 2017, Mar; 125(3): 289-295.

tuttavia mette sicuramente in evidenza effetti sulla salute altrettanto importanti, che potrebbero manifestarsi anche con patologie croniche a lungo termine e che, considerando anche la diffusione planetaria di questo erbicida, potrebbero affliggere un numero enorme di persone. Visti i risultati dello studio pilota che, sebbene parziali, non sono trascurabili, l'IR sta pianificando uno studio integrato [5], nel quale sarà utilizzato un modello "uomo equivalente", sia per i livelli di dose somministrati che per la durata dell'esposizione. Sarà testato non solo il glifosate, ma anche il suo formulato Roundup®. Saranno valutati nel dettaglio gli effetti tossici, anche in termini di espressione genica e i parametri relativi alla fertilità, ai difetti dello sviluppo, effetti sul sistema nervoso, oltre che le eventuali differenze dell'incidenza dei diversi tumori correlabili al trattamento. Il nostro sarà il primo studio sistematico e integrato sul glifosate e i suoi formulati; lo studio sarà finanziato attraverso una campagna di raccolta fondi su internet (www.glyphosatestudy.org), che garantirà nel contempo l'indipendenza e l'impatto a livello planetario dei risultati. Inoltre, qualunque sia il risultato dello studio condotto dall'Istituto Ramazzini, le agenzie regolatorie e i *policy-maker* avranno finalmente a disposizione risultati solidi e indipendenti su cui basare



un'adeguata valutazione del rischio. Entro 5 anni i risultati dello studio a lungo termine saranno disponibili e, anche in caso di risultati negativi, permetteranno di sciogliere tutte le incertezze, le discussioni e le polemiche attorno a questo composto così importante per la salute pubblica, ma anche per il mercato globale. Questi 5 anni di proroga dell'autorizzazione dovrebbero essere utilizzati per approfondire in maniera indipendente le conoscenze sui potenziali rischi per la popolazione; questo periodo di proroga costituisce inoltre un'occasione unica e importante per rivedere e ottimizzare il sistema regolatorio europeo, alla luce delle nuove conoscenze sugli effetti delle basse dosi delle sostanze chimiche, in particolare dei pesticidi.

Nel contempo, attraverso strategie adeguate di revisione delle regole più trasparenti, esiste l'opportunità di recuperare la fiducia dei consumatori per quelle istituzioni preposte alla salvaguardia della salute che sono apparse invece tanto lontane dai bisogni dell'opinione pubblica di chiarezza e trasparenza.

Fiorella Belpoggi

Direttrice Area Ricerca, Istituto Ramazzini
Cooperativa sociale onlus, Bologna

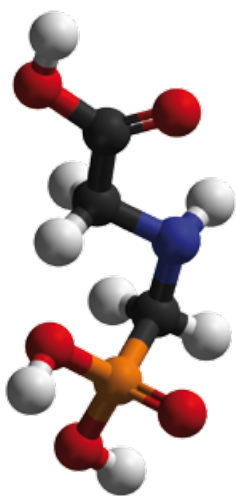
NOTE

¹ "COST Action: DiMoPEX" (DiMoPEX: *Diagnosis, Monitoring and Prevention of Exposure-Related Noncommunicable Diseases*), <http://dimopex.eu/contact-us/>

ATTUALITÀ

LE CONCLUSIONI DI EFSA, ECHA E IARC

LA CONTROVERSA CLASSIFICAZIONE DEL GLIFOSATE DA PARTE DEGLI ORGANISMI INTERNAZIONALI



La molecola del glifosate è stata sviluppata negli anni 50, ma solo negli anni 70 ne sono state evidenziate le proprietà di erbicida ed è iniziata la produzione industriale da parte di Monsanto, in un formulato chiamato *Roundup*. Per circa venti anni la produzione di glifosate è stata molto limitata, fin quando il formulato originale è stato sostituito da un nuovo preparato (*Roundup Ready*) con più ampie possibilità di impiego e di utilizzo per molte specie di piante infestanti. Esistono molti studi tossicologici sia sulla molecola del glifosate che sui formulati. Sulla base dei risultati di questi studi, il glifosate è stato inserito nel 2002 nell'*Annex 1* della normativa sui pesticidi, autorizzandone l'uso nell'ambito del territorio della Ue.

Tra il 2012 e il 2015, il glifosate è stato sottoposto a una completa rivalutazione da parte degli stati membri, inclusa l'Italia, e dall'Efsa (*European food safety authority*) nell'ambito di una riclassificazione di tutti i pesticidi, in accordo ai nuovi

criteri di classificazione, incorporati nella nuova normativa europea sui pesticidi emanata nel 2009. Questa rivalutazione ha ribadito le conclusioni raggiunte già nel 2002 e cioè che "il glifosate non è ritenuto porre un pericolo di cancerogenicità per l'uomo" (ottobre 2015). Nel 2016, la Commissione europea ha ritenuto di richiedere un parere anche all'Echa (*European Chemicals Agency*). Anche la valutazione condotta da questa Agenzia conclude che "non c'è alcuna evidenza che leghi il glifosate al tumore nell'uomo" e che il glifosate non debba essere classificato come mutageno o tossico per la riproduzione (giugno 2016). Questa valutazione è condivisa da tutte le altre Agenzie regolatorie ed è basata sulla valutazione di tutte le informazioni disponibili. Il glifosate è stato tuttavia classificato come cancerogeno dalla *International agency for research on cancer* (Iarc), nel marzo 2015, sulla base di un numero limitato di studi (la Iarc non è un'Agenzia regolatoria e, quindi, non ha accesso a tutti gli studi disponibili, né può condurre audit di questi studi o verificare i dati grezzi, prima dell'elaborazione). Per ovviare a questa limitazione, che potrebbe essere la causa principale nella discrepanza della valutazione della Iarc, tutti gli studi sul glifosate sono stati resi disponibili al gruppo di lavoro Iarc. A novembre 2017 l'Unione europea ha rinnovato per 5 anni l'autorizzazione all'utilizzo (a fronte della richiesta della Commissione europea di un rinnovo per 10 anni). (AC)