

B. Papaleo¹, L. Caporossi¹, M. De Rosa¹, L. Chiovato², M. Ferrari², M. Imbriani², S. Signorini¹, A. Pera¹

Esposizione professionale a distruttori endocrini: stato dell'arte

¹ ISPEL - Dipartimento di Medicina del Lavoro, Roma

² Fondazione Salvatore Maugeri

RIASSUNTO. La ricerca degli effetti sulla salute umana dell'esposizione a "distruttori endocrini" è un punto focale nella comunità scientifica, sia europea che internazionale, per l'estrema distribuzione di questi contaminanti negli ambienti di vita e di lavoro e per le conseguenze che una tale esposizione può determinare sia sulla salute fisica che psicologica dei soggetti. Viene presentato un quadro generale degli studi condotti finora riguardo a specifiche esposizioni professionali che coinvolgono singole sostanze chimiche (bis-fenolo A, stirene,...) o gruppi omogenei di tossici (pesticidi, metalli, diossine, ftalati,...). Seppur nella notevole diversità delle vie di esposizione e dei meccanismi tossici di azione, nonché nella difficoltà di definire con accuratezza la condizione di esposizione lavorativa, si evidenziano correlazioni significative tra la potenziale dose e gli effetti registrati che necessitano di studi più approfonditi. In particolare ancora sono fortemente discusse le metodologie epidemiologiche applicate, che si ritiene sovrastimino l'esposizione; la "misura" o l'accurata descrizione delle condizioni espositive risulta l'elemento critico di tutto il processo, che si sta cercando di ottenere con l'applicazione di procedure standardizzate e di test statistici, dando delle indicazioni di massima per la definizione di un protocollo di valutazione del rischio nell'esposizione professionale. Gli studi condotti finora si sono orientati alla valutazione degli effetti sul sistema riproduttivo, maschile in particolare; considerata però l'ampia gamma di equilibri e sistemi in cui i distruttori endocrini possono intervenire è stato richiesto un maggiore impegno da parte della comunità internazionale per lo sviluppo di ricerche che investighino gli effetti su altri organi del sistema endocrino (primo fra tutti la tiroide), nonché sul sistema immunologico e su quello neurologico.

Parole chiave: distruttori endocrini, EDC, valutazione del rischio, esposizione occupazionale.

ABSTRACT. www.gimle.fsm.it

Research into how exposure to "endocrine disrupters chemicals" affects human health is attracting increasing attention among European and international scientists since these contaminants are so widespread in the home and work environment and can have far-reaching effects on mental and physical health. Here we draw a general picture of studies to date on specific occupational exposures to single chemicals such as bisphenol A, styrene, etc., or homogeneous groups such as pesticides, metals, dioxins, phthalates and others. Although the exposure occurs in different ways, the toxic mechanisms of action vary widely, and it is hard to establish precisely the conditions of occupational exposure, significant correlations are nevertheless evident between the potential dose and its effects and further studies are certainly needed. There is still much debate on the epidemiological methods employed, which may overestimate exposure. The "measure" or at least an accurate description of exposure conditions is critical to the whole question and attempts to ensure this involve standardized procedures and statistical tests as the basis for a protocol for assessing the risk of occupational exposure. Investigations to date have focused on the effects on the reproductive system, in males in particular. However, considering the broad range of equilibria and systems on which endocrine destructive compounds can act, the international scientific community needs to persist in its efforts to develop methods for checking the effects on other endocrine organs - particularly the thyroid gland - and on the immune and neurological systems.

Key words: endocrine disrupters chemicals, EDC, risk assessment, occupational exposure.

Introduzione

L'interesse del mondo scientifico per gli inquinanti ambientali in grado di interferire con il sistema endocrino, è cresciuto a partire dagli anni '90 fino a diventare oggi una delle principali aree di ricerca a livello internazionale, nonché una priorità per gli organismi predisposti al controllo della salute e della sicurezza pubblica. Negli Stati Uniti la Environmental Protection Agency (EPA) ha proposto delle linee guida per venire incontro alle esigenze di nuove conoscenze in questo campo, promuovendo monitoraggi sullo sviluppo puberale, sulla qualità del liquido seminale nella popolazione maschile e sulle alterazioni del ciclo mestruale in quella femminile, allo scopo di individuare gli eventuali organi bersaglio dell'esposizione a queste sostanze. Grande spinta, è stata data all'impostazione di un programma di screening dei distruttori endocrini, potenzialmente presenti nella catena alimentare (Food Quality Protection Act, 1996). Anche a livello federale la Committee on the Environment and Natural Resources (CENR) ha sviluppato un programma quadro per l'individuazione dei livelli critici oltre cui può considerarsi reale il rischio di effetti negativi sul sistema endocrino (1).

L'Europa non è stata da meno. Infatti, già nel quarto programma quadro per la ricerca e lo sviluppo tecnologico (1994-1998) ben 18 milioni di euro sono stati stanziati per la realizzazione di ricerche orientate a: l'identificazione e determinazione dei distruttori endocrini (EDC) nel trattamento delle acque; l'esposizione umana e gli effetti sulla salute; la valutazione dell'impatto che i distruttori endocrini hanno sugli umani e sull'ecosistema; lo sviluppo di nuovi metodi per la loro determinazione.

L'impegno è proseguito con il quinto programma quadro (1998-2002) che ha quasi triplicato i fondi per il finanziamento dei progetti sul monitoraggio ambientale di EDC, con particolare attenzione agli esiti dell'esposizione per pesci e invertebrati (che hanno mostrato una grande suscettibilità, oltre il fatto di essere stati in contatto con quantità elevate di contaminanti), infine studi sui possibili effetti sulla salute umana, con speciale riguardo alle condizioni di basse dosi e esposizioni multiple. Nel 2001 venne univocamente identificata la "Strategia Comunitaria per gli Endocrine Disrupters" che ha portato alla creazione di una struttura indicata come CREDO, Cluster of Research

into Endocrine Disruption in Europe, formalmente lanciato nel Marzo 2003 e costituito da quattro progetti generali che coinvolgono 63 laboratori in tutta Europa (2, 3, 4,5).

Tutto questo per dare una dimensione dell'impegno che si sta spendendo a livello internazionale, per una definizione efficace del rischio dell'esposizione a distruttori endocrini per la salute umana, per la fauna e per l'ambiente in generale.

Identificazione del rischio da EDC

Tossicità

Con il termine Distruttori Endocrini (EDC) viene indicato un gruppo di sostanze chimiche, naturali e di sintesi che, nonostante la notevole differenza strutturale a livello molecolare, interferiscono attraverso meccanismi altrettanto diversi, con il sistema endocrino producendo effetti comuni.

Sono in grado di:

- riprodurre l'attività degli ormoni fisiologici dell'organismo, partecipando alle stesse reazioni chimiche e provocando gli stessi effetti;

- bloccare, con azione competitiva, i recettori ormonali e di conseguenza bloccare l'attività degli ormoni naturali;
- interferire con la sintesi, il trasporto, il metabolismo e l'escrezione degli ormoni, alterandone le concentrazioni fisiologiche (6) e di conseguenza la funzione endocrina corrispondente.

In tabella I sono sintetizzati i meccanismi di interazione per ciascun gruppo di sostanze, con particolare riferimento alla capacità di interagire, quale agonista o antagonista, con i recettori ormonali.

Dovendo caratterizzare e valutare il rischio derivante da una esposizione a distruttori endocrini, il primo elemento da considerare è l'ampio spettro di problemi che possono insorgere per la salute umana. Gli effetti principali che sono stati registrati, comprendono alterazioni dello sviluppo e della funzionalità dell'apparato produttivo, alterazioni dei processi di crescita degli individui esposti. Sono stati inoltre identificati: effetti carcinogenetici (mammelle e testicoli) (35), alterazioni del sistema immunitario (36) e neurologico, condizione particolarmente problematica nei bambini per le fasi dello sviluppo con disturbi dell'apprendimento (37).

Tabella I. Meccanismi di interazione dei "distruttori endocrini" con il sistema endocrino

Autore	EDC	Effetto agonista	Effetto antagonista	Interazione
(7) Romanowicz K et al, 2004 (8) Kanno S et al, 2004 (9) Harris RM et al, 2004	Fitoestrogeni	Agonisti dei recettori estrogenici (come il coumestrol) (Romanowicz K et al; Kanno S et al)	Antagonisti dei recettori estrogenici (come genistein, deidzein) (Kanno S et al)	Funzionano da substrato e/o inibitori della solfotransferasi, disattivando gli estrogeni (come i flavonoidi e i flavonoidi solfoconjugati) (Harris RM et al)
(10) Johansson M et al, 1998 (11) Machala M et al, 2004 (12) Salama J et al, 2003	PCB		Antagonisti recettoriali, sia glucorticoidi (Johansson M et al) che estrogenici (Machala M et al)	Interagiscono nell'espressione neuronale dei recettori estrogenici (Salama J et al)
(13) Aoki Y, 2001	Diossine			Interazione con il metabolismo della proteina kinasi C e dei livelli di dopamina; attiva il recettore per idrocarburi arilici che sono strettamente associati al recettori estrogenici α e β (Aoki Y)
(14) Shade L, 2003	PCDF			Interagiscono con i recettori per idrocarburi arilici che sono strettamente associati al recettori estrogenici α e β (Shade L)
(15) Okubo T et al, 2003 (16) Borch J et al, 2004	Ftalati	Dicicloesil-ftalato, di(2-etilesil)ftalato, butil benzil ftalato sono agonisti dei recettori estrogenici (Okubo T et al)	Mono-n-pentilftalato, monocicloesilftalato, monobenzil ftalato, monoisopropil ftalato e il butil benzil ftalato agiscono come antagonisti recettoriali degli estrogeni (Okubo T et al)	Il diisononil-ftalato e il di(2-etilesil)ftalato hanno mostrato di interagire con la steroidogenesi (Borch J et al)
(17) Quesada I et al, 2002 (18) Fujimoto Y et al, 2003 (19) Kwack SJ et al, 2002	Alchilfenoli		Il 4-t-ottilfenolo e il 4-nonil fenolo sono antagonisti per i recettori estrogenici (Kwack SJ et al)	Il bisfenolo-A attiva lo stesso fattore di trascrizione (CREB) del 17 β -estradiolo (I.Quesada et al); il nonil-fenolo inibisce il metabolismo dell'acido arachidonico e ha effetti anche sulla cicloossigenasi (Fujimoto Y et al)

(segue)

(segue Tabella I)

Autore	EDC	Effetto agonista	Effetto antagonista	Interazione
(20) Walsh LP et al, 2000 (21) Rawlings NC et al, 1998 (22) Sarkar R et al, 2000 (23) Scippo ML et al, 2004 (24) Sanderson JT et al, 2002 (25) Morinaga H et al, 2004 (26) Vinggaard AM et al, 2002 (27) Walsh LP et al, 2000 II (28) Sohoni P et al, 2001	Antiparassitari, pesticidi, fitofarmaci	Sono agonisti per i recettori estrogenici metossiclor, ortofenilfenolo, clordecone, dieldrin, aldrin, lindano, endosulfan, toxafene, idrossiclordene, atrazina, vinclozolin, benomil, (Scippo ML et al)	Il prochloraz (Vinggaard AM et al), il fenitrothion (Sohoni P et al) antagonizza i recettori androgenici	Il lindano (Walsh LP et al) e il dimetoato (Walsh LP et al) inibiscono la steroidogenesi. Inibizione centrale del rilascio di gonadotropine (carbofuran, clorpirifos, dimetoato, blindano, trifluralin, in generale organo fosfati e carbammati) (Rawlings NC et al; Sarkar R et al). Inibiscono l'aromatasi i fungicidi imidazolici; inducono l'attività dell'aromatasi il vinclozolin, l'atrazina (Sanderson JT et al), il benomil e il carbendazim (Morinaga H et al)
(29) Marti MB et al, 2003 (30) Choe SY et al, 2003 (31) Tchernitchin NN 2003	Metalli pesanti	Si comportano da agonisti dei recettori estrogenici (Marti MB et al; Choe SY et al)		Il Pb mostra di interagire con diversi meccanismi dell'azione degli estrogeni a vari livelli (Tchernitchin NN)
(32) Sharara FI et al, 1998 (33) Nakaia N et al, 2003 (34) Brown NA et al, 2000	Solventi organici	Si sospetta una loro azione come xenoestrogeni (Sharara FI et al)		Il toluene induce un danno ossidativo al DNA degli spermatozoi determinando un effetto tossico a livello riproduttivo (Nakaia N et al). Si sta valutando l'interazione dello stirene nel metabolismo degli ormoni tiroidei ma ancora non ci sono dati definitivi (Brown NA et al)

I Distruttori Endocrini comprendono:

- o i contaminanti alogenati persistenti (diossine, policlorobifenili-PCB, policlorodibenzofurani-PCDF) che hanno mostrato già in passato la loro tossicità per il sistema riproduttivo, in particolare si è osservata la maggiore incidenza di endometriosi in donne esposte a diossine (38) e sul prodotto del concepimento una riduzione del peso e casi di microcefalia (39). Studi su esposizioni ad alte dosi, per alimenti fortemente contaminati, hanno descritto l'insorgere di vere e proprie patologie dello sviluppo cognitivo per i bambini, oltre ad alterazioni dei livelli di ormoni tiroidei, del metabolismo della proteina chinasi C e dei livelli di dopamina (13). Sono state investigate anche le possibili capacità di interazione con recettori diversi, ed i PCB hanno mostrato di essere antagonisti notevoli per il recettore glucocorticoidi (10). Gli effetti negativi come antiandrogenici, in particolare sulla qualità del liquido seminale, sono ancora dibattuti. Alcuni autori, hanno indicato una certa correlazione tra i livelli sierici di PCB e diossine rispetto ad una motilità anomala degli spermatozoi, alla loro numerosità e morfologia (40), mentre altri ricercatori ritengono che, variazioni demografiche possano essere più influenti che non l'esposizione specifica a questi contaminanti ambientali (41). La letteratura si sta ora orientando anche verso lo studio di altri meccanismi con cui questi agenti chimici possono interagire, causando alterazioni finora non considerate, come ad esempio una accelerazione dei processi di osteoporosi e quindi la diminuzione della densità minerale ossea (42).
- o antiparassitari, pesticidi, fitofarmaci (tiocarbammati, clororganici, imidazolici, triazolici, triazine), che determi-

nano un'azione antiandrogenica, evidenziata dai cambiamenti sessuali macroscopici riscontrati in animali acquatici (particolarmente per esposizioni a erbicidi e fungicidi) come la demascolinizzazione in ratti e pesci (43) e la produzione di estrogeni e l'ermafroditismo nelle rane (44). Sono certamente il gruppo di sostanze più numerose, di pericolosità ormai certa, dato il loro meccanismo di accumulo nei tessuti e nell'ambiente (45, 46). Anche nell'uomo provocano un effetto antiandrogenico, ma hanno mostrato anche di mimare l'azione estrogenica, azioni confermate sia da esperimenti in vivo, che in vitro (47, 48, 49, 50, 51). Per quanto riguarda l'effetto sul sistema riproduttivo femminile, in animali da laboratorio (ratti), alcuni pesticidi organoclorurati (metossiclor, clordecone, kepone) hanno mostrato di accelerare la dilatazione vaginale, inibire le funzioni luteali, ridurre la fertilità interferendo con l'ovulazione e l'impianto dell'ovulo nell'utero; gli organofosfati, insetticidi e fungicidi sono stati meno studiati ma si sono registrati l'induzione dell'ovulazione, il decremento dei livelli di LH e del progesterone nel sangue (32), gli erbicidi hanno mostrato in particolare gli effetti fetotossici (52).

- o sostanze di uso industriale, come:

- gli alchilfenoli con azione simil estrogenica e antiandrogenica; tra questi il bis-fenolo A (BPA) ha assunto un rilievo particolare, a causa della sua ampia distribuzione in materiali plastici di uso quotidiano. Ha una dimostrata attività estrogenica (17)) in particolare interagisce con i recettori di membrana anche a basse dosi (53). Studiando la correlazione tra i livelli sierici di BPA e degli ormoni sessuali, si sono rivelate strette corrispondenze con il testosterone sia

totale che libero e il metabolismo di questa sostanza è fortemente legato agli ormoni maschili (54, 55). Gli effetti negativi sul sistema riproduttivo e sulla qualità degli spermatozoi, sono stati confermati dai controlli istologici di studi in vivo (56).

- gli ftalati come modulatori estrogenici (57, 58); in particolare una esposizione prolungata al di(2-etile-sil)-ftalato ha mostrato l'induzione di alti livelli dell'ormone luteinizzante e l'incremento dei livelli sierici degli ormoni sessuali (testosterone e 17 β -estradiolo) associate ad una iperplasia cellulare (59). Esperimenti in vivo hanno mostrato, inoltre, un effetto antiandrogenico in ratti maschi esposti a di(2-etile-sil)-ftalato in utero e una riduzione nella produzione di testosterone, con effetto cumulativo per esposizione anche a diisononil-ftalato (60, 16). Gli studi sull'uomo finora hanno definito, come una esposizione ambientale durante la gravidanza porti ad una contaminazione della vita intrauterina ed esista una chiara correlazione tra l'esposizione materna e quella fetale (61). Viene inoltre confermata la via inalatoria, come importante passaggio per l'inquinante (62).
 - alcuni metalli pesanti come Cd, As, Pb, Hg, Mn, hanno una tossicità per il sistema riproduttivo documentata da anni: incremento di rischio di aborti spontanei, morte fetale intrauterina, parti pretermine per la popolazione femminile (32), inducono oligospermia e riduzione della motilità degli spermatozoi per la maschile (63, 64). Capito a parte, poi, richiederebbe il mercurio i cui effetti anche sul sistema neurologico, sono tragicamente noti dopo l'inquinamento massiccio delle coste giapponesi (65).
 - stirene, toluene, percloroetilene, xilene, interagiscono con i recettori estrogenici (32). Riguardo allo stirene e ad i suoi eventuali effetti sul sistema riproduttivo (66), i risultati non sono ancora univoci, soprattutto per esposizioni a basse dosi (67, 16, 68, 69). Alcuni autori suggeriscono una possibile alterazione sull'attività tiroidea (34).
- o i fitoestrogeni, sui cui effetti negativi, quali xenoestrogeni, molto ancora si dibatte (32). Studi in vivo hanno mostrato che, alcuni fitoestrogeni sono in grado di modificare i livelli dell'ormone luteinizzante (LH) e della prolattina (PRL) agendo direttamente sul sistema nervoso centrale, in modo particolare per esposizioni ad alte dosi (70). La somministrazione di una dieta ricca di etinilestradiolo (fitoestrogeno della soia) a ratti da laboratorio, nel periodo di gestazione e alcuni giorni dopo il parto, ha mostrato forti irregolarità del ciclo dell'estro (estrogeno persistente), alterazioni morfologiche della vagina e istopatologiche delle ovaie e dell'uterocolari (71).

Esposizione professionale

Gli studi epidemiologici in lavoratori esposti a distruttori endocrini sono scarsi. Ciò è dovuto, principalmente, alla difficoltà nella predisposizione di un accurato disegno epidemiologico, condizionato dalla contemporanea presenza ambientale di questi composti e dalla loro larga diffusione negli ambienti di vita.

Storicamente le prime ricerche hanno riguardato i lavoratori delle industrie farmaceutiche produttrici di pillole anticoncezionali (in cui l'evidenza degli effetti estrogenici facilitava l'identificazione della fonte di rischio) e gli esposti a DDT, che già dal 1949 mostravano oligospermia (72).

Negli lavori più recenti, presenti in letteratura, particolare riguardo è stato posto nello studio della fertilità maschile; la valutazione degli effetti negativi per i lavoratori in serra in contatto con pesticidi, ha mostrato un ritardo significativo nel concepimento per le mogli degli operatori (73); in particolare dai dati raccolti da circa 2000 coppie di agricoltori, che utilizzavano abitualmente fenossici erbicidi, si è rilevato un rischio di aborti spontanei significativamente superiore rispetto alla popolazione generale (74).

Sempre con riguardo alla fertilità maschile, si è voluto avere un quadro più generale dei possibili tossici coinvolti e sono stati, quindi, monitorati lavoratori esposti a solventi e metalli, agricoltori in serra e lavoratori agricoli addetti all'uso degli antiparassitari, raccogliendo i dati sul tempo atteso per il concepimento. L'esito ha mostrato un ritardo significativo per i primi, molto meno accentuato per i lavoratori agricoli non in serra (75) e una alterazione morfologica del liquido seminale (76). Non si sono presentate evidenze su un possibile incremento di aborti spontanei per esposizioni in una popolazione maschile a solventi e fumi di metalli (77).

È stato condotto anche un progetto di ricerca (Asclepios project) multicentrico, che ha sviluppato un protocollo di ricerca epidemiologica, per l'individuazione dei fattori di rischio lavorativi con effetti negativi sul sistema riproduttivo maschile, prendendo in considerazione, fungicidi, stirene e piombo inorganico come fonti di rischio e investiga la possibile correlazione tra i dati raccolti dai questionari e la qualità del liquido seminale (78). I primi risultati di questo progetto hanno indicato come una esposizione a stirene porti ad una riduzione nel numero degli spermatozoi statisticamente significativa rispetto ai controlli, sottolineando la vulnerabilità della spermatogenesi a questo genere di esposizione, anche se i tentativi di correlazione dei dati ottenuti con i dosaggi di stirene, non hanno portato ad alcun esito (79, 80); ugualmente l'identificazione di una ridotta fertilità dei soggetti esposti a stirene nell'industria della plastica, definita valutando il tempo di attesa per il concepimento, non ha indicato dati statisticamente significativi (81, 82). Gli effetti dell'esposizione a pesticidi e fungicidi in particolare, non ha mostrato fin ora risultati significativi. Si è osservato che questo genere di esposizione, non comporta l'aneuploidia degli spermatozoi, al contrario dell'abitudine del fumo che risulta un forte fattore di confondimento (83), non ci sono differenze sostanziali nelle misurazioni della qualità del liquido seminale (84), né sono state trovate correlazioni tra l'esposizione e riduzione della fertilità (tempo di attesa per il concepimento) (85). Ugualmente per esposizione a piombo non si sono trovate associazioni significative tra esposti e potenziale ridotta fertilità (86).

In studi epidemiologici su una popolazione di professionalmente esposti a xenoestrogeni, in industrie di plasti-

ficanti e di resine, si è associata a tale esposizione, in particolare per PCB e 4-ottil-fenolo, la maggiore incidenza di tumore alla mammella (87). In spruzzatori di resine eposidiche (composte in larga parte da BPA e dal suo diglicidil-etero, che viene metabolizzato in bis-fenolo A) il dosaggio di questa sostanza in urine ha mostrato una correlazione con i livelli di FSH, indicando una interferenza distruttiva nella secrezione degli ormoni gonadotropici nell'uomo (88). Il metabolismo del bisfenolo è strettamente legato agli ormoni androgenici; si è osservata una stretta correlazione tra i livelli sierici di BPA e i livelli di testosterone, totale e libero (54).

Il potenziale rischio per la "salute riproduttiva", sia maschile che femminile, proveniente da policlorobifenili (PCB) viene confermato dalla registrazione di una aumentata incidenza di aborti spontanei, tempi di attesa nel concepimento (time to pregnancy) e da una alterazione della qualità del liquido seminale (89), risultati ottenuti confrontando e valutando i dosaggi di PCB in sangue e tessuto lipidico e studi epidemiologici sulla popolazione generale.

L'effetto dello stirene sulla tiroide, viene confermato da un monitoraggio biologico di esposti che correla significativamente il dosaggio dei metaboliti dello stirene con l'alterazione dei livelli degli ormoni tiroidei (90).

Tabella II. Studi effettuati su operatori professionalmente esposti a EDC

Riferimento bibliografico	EDC	Tipo di esposizione professionale	Tipo di studio	Campione studiato	Problema considerato	Esito dello studio
72	Estrogeni di sintesi	Lavoratori di industrie farmaceutiche produttrici di pillole anticoncezionali	Review di studi epidemiologici			Xenoestrogeni
72	DDT	Spruzzatori	Review di studi epidemiologici		Fertilità maschile	Oligospermia
73	pesticidi	Lavoratori in serra	Studio epidemiologico	127 lavoratori in serra; 173 controlli	Fertilità maschile	Ritardo significativo nel concepimento per le mogli dei lavoratori
74	Pesticidi (fenossierbici)	Lavoratori in serra	Studio epidemiologico retrospettivo	2000 coppie di lavoratori in fattorie	Fertilità maschile	Numero di aborti spontanei significativamente superiore rispetto alla popolazione generale
75	Solventi, metalli, pesticidi	Agricoltori e lavoratori in serra	Studio epidemiologico	64 lavoratori della Zecca e 89 controlli, 218 lavoratori agricoli con 104 controlli, 127 lavoratori in serra e 127 controlli	Fertilità maschile	Ritardo significativo nel concepimento per le mogli dei lavoratori in serra, meno per gli agricoltori
76	Solventi, metalli, pesticidi	Agricoltori e lavoratori in serra, lavoratori esposti a metalli in diverse industrie	Review di studi epidemiologici		Fertilità maschile	Alterazione morfologica del liquido seminale
77	Solventi e fumi di metalli	Stampatori e lavoratori di fonderie	Studio epidemiologico	167 lavoratori della Zecca; 153 controlli	Fertilità maschile	Non ci sono evidenze per un possibile incremento di aborti spontanei
79	Stirene	Operai dell'industria della plastica	Studio epidemiologico	23 operai esposti; 21 controlli	Fertilità maschile	Riduzione del numero degli spermatozoi, anche se i tentativi di correlare questi dati con i livelli di stirene dosati non hanno portato esiti significativi
81	Stirene	Operai dell'industria della plastica	Studio epidemiologico	220 lavoratori esposti; 382 controlli	Fertilità maschile	Nessun dato significativo nella valutazione dell'attesa del concepimento
83	Fungicidi	Agricoltori	Studio epidemiologico	30 agricoltori	Fertilità maschile	Non ci sono alterazioni degli spermatozoi, il fumo determina una aneuploidia molto più significativa
84	Fungicidi	Agricoltori	Studio epidemiologico retrospettivo	171 agricoltori tradizionali e 85 di fattorie "biologiche"	Fertilità maschile	Non ci sono differenze sostanziali nel liquido seminale

(segue)

(segue Tabella II)

Riferimento bibliografico	EDC	Tipo di esposizione professionale	Tipo di studio	Campione studiato	Problema considerato	Esito dello studio
85	Fungicidi	Agricultori	Studio epidemiologico retrospettivo	363 lavoratori rurali esposti, 449 in fattoria, 121 lavoratori di vivai	Fertilità maschile	Nessuna correlazione riscontrata tra esposizione ad aumento dell'attesa del concepimento
86	Piombo	Operai di industrie di batterie	Studio epidemiologico retrospettivo	1104 soggetti studiati	Fertilità maschile	Nessuna correlazione significativa tra esposizione ad aumento dell'attesa del concepimento
87	PCB e 4-ottil-fenolo	Operatori di industrie di plastificanti e resine	Studio epidemiologico	261 esposti; 753 controlli	Coinvolgimento nello svilupparsi di patologie	Maggiore incidenza di tumore alla mammella
88	Bis-fenolo A	Spruzzatori di resine epossidiche	Studio epidemiologico	42 esposti e 42 controlli	Coinvolgimento nel metabolismo degli ormoni gonadotropici	Si è trovata una correlazione tra l'esposizione a bis-fenolo A e i livelli di FSH, indicando una interferenza distruttiva con la secrezione di questo ormone
89	PCB	Review sugli studi epidemiologi	Review di studi epidemiologici		Fertilità maschile e femminile	Aumentata incidenza di aborti spontanei, tempi di attesa del concepimento, e alterazione della qualità del liquido seminale
90	Stirene	Operai dell'industria della plastica	Studio epidemiologico	30 esposti	Effetto sulla tiroide	Il monitoraggio biologico di professionalmente esposti correla i livelli dei metaboliti dello stirene con quelli degli ormoni tiroidei

Problematiche dello studio epidemiologico

L'approccio metodologico dei disegni epidemiologici su esposizioni a distruttori endocrini, è un argomento molto discusso. Alcuni autori hanno cercato di dare delle indicazioni di massima, con la definizione di un protocollo di valutazione del rischio per l'esposizione professionale (91), partendo dall'identificazione del rischio fino alla definizione della corrispondenza dose/risposta.

La stessa validità dell'utilizzo di questionari per la raccolta della storia lavorativa di operatori in contatto con PCB, viene posta in discussione. Si è infatti stimata la presenza di un range dal 13% al 29% di dati non correttamente descrittivi ed in particolare è stata riscontrata una tendenza, per la popolazione femminile, a sovrastimare l'esposizione (per gli uomini si è avuta una distribuzione random) (92).

Per ovviare a questo, è stata proposta una procedura standardizzata, basata sull'applicazione di due test statistici (test di Gibbons di Alternative Minimum Level, AML; test per la determinazione di una deviazione standard relativa, RSD), per ottenere la riproducibilità richiesta nei dati dei monitoraggi biologici di esposti a PCB. Il metodo è stato validato applicandolo a dati raccolti nel 1960, mostrando una buona precisione e un basso limite di rilevabilità (93).

Questione centrale è la "misura" o l'accurata descrizione, dell'esposizione che risulta una variabile molto più problematica piuttosto che l'accertamento dei problemi riproduttivi. Questa situazione è presente sia per gli studi ca-

so/controllo nei lavoratori, che per la popolazione generale. Per ridurre al minimo errori grossolani viene consigliato di combinare i dati dei monitoraggi biologici con quelli dei questionari raccolti, facendo ben attenzione ad utilizzare metodi analitici accurati ed affidabili e soprattutto motivati da considerazioni strettamente metaboliche (il meccanismo biologico altera quali funzioni?) (94). L'interpretazione dei dati ottenuti e un loro utilizzo ai fini della prevenzione dei danni per la salute, è un punto focale ma non di semplice trasposizione, come anche la definizione di "limiti", ambientali e biologici che possano sufficientemente tutelare la salute endocrina (95).

Per quanto riguarda la "salute riproduttiva", un gruppo di ricercatori danesi, scandinavi, norvegesi e finlandesi, ha proposto un criterio di classificazione per i tossici per la riproduzione (96) che tiene conto sia degli studi epidemiologici, che dei risultati sperimentali ottenuti in tossicologia, al fine di avere uno strumento versatile per il controllo e la pianificazione della prevenzione nei luoghi di lavoro (97).

Considerazioni e prospettive future

La ricerca scientifica si è orientata negli ultimi anni allo studio degli effetti tossici che molte sostanze hanno sull'apparato riproduttivo, sia a livello maschile che femminile. L'importanza di indagare su tale aspetto della vita, deriva dagli infiniti risvolti che comporta un'alterazione della sfera riproduttiva; dalla possibilità di concepire alla normale evoluzione della gravidanza fino alla nascita di un fi-

glio "sano". Non è dunque solo la salute fisica ad essere coinvolta, ma anche la sfera emotiva dei soggetti coinvolti. Basta pensare alle importanti problematiche psicologiche causate dalle condizioni di sterilità in sé e/o all'iter diagnostico-terapeutico della sterilità. Alla luce di ciò, risulta ancora più evidente la necessità di approfondire le informazioni e diversificarle riguardo possibili modificazioni dei livelli di altri ormoni, come i tiroidei (98) e altri sistemi coinvolti come quello immunologico e neurologico (99), prendendo in considerazione le condizioni di "susceptibilità" dovute a fattori sia congeniti che acquisiti.

Un fattore che sarà importante considerare è l'esposizione ambientale pregressa, che condiziona notevolmente la dose interna della popolazione generale, specialmente per quegli inquinanti lipofili che si accumulano quindi nel tessuto adiposo ed hanno una persistenza notevole; ad esempio la popolazione generale possiede livelli ematici di PCB confrontabili con esposizioni a basse dosi e quindi una ricerca della correlazione dose/risposta risulta estremamente complessa (88).

Appare chiaro quindi come l'esposizione professionale è certamente una condizione ancora da studiare attentamente (100, 101) attraverso:

1. l'identificazione di tutte quelle sostanze chimiche che possano risultare tossiche per il sistema endocrino;
2. descrizione e valutazione dell'esposizione;
3. definizione del paradigma dose/risposta che risulta alquanto complicato ottenere a causa della notevole diffusione ambientale dei contaminanti;
4. l'identificazione di livelli di concentrazione ambientale e biologica al di sopra dei quali si ritiene reale il rischio di danni per la salute;
5. impostazione di metodiche analitiche opportune e validate;
6. ricerca di intervalli di riferimento per i dosaggi biologici;
7. una definizione condivisibile di "basse dosi" e univocamente riconosciuta;
8. definizione di protocolli operativi per lo sviluppo di disegni epidemiologici mirati agli ambienti lavorativi;
9. valutazione delle suscettibilità personali e soprattutto nelle opportune considerazioni delle differenze di genere.

Bibliografia

- 1) Kavlock RJ. Overview of Endocrine Disruptor Research Activity in the United States. *Chemosphere* 1999, 39(8): 1227-1236.
- 2) Endocrine Disruptors Website - How the European Commission uses the precautionary principle to tackle endocrine. europa.eu.int/comm/environment/endocrine.
- 3) European Commission 2001, European Workshop on Endocrine Disruptors, Aronsborg 18-20 June 2001.
- 4) Vandeval L. Perturbateurs endocriniens: environnement, santé, politiques et principe de précaution. *Bull Acad Natle Méd* 2000, 184(7): 1477-1490.
- 5) Hutchinson TH, Brown R, Brugger KE, Campbell PM, Holt M, Länge R, McCahon P, Tattersfield LJ, van Egmond R. Ecological risk assessment of endocrine disruptors. *Environ Health Perspect* 2000, 108(11): 1007-1014.
- 6) Borgioli A. L'inquinamento ambientale da sostanze nocive per il sistema ormonale: i distruttori endocrini (endocrine disruptors, EDs). *Ig Sanita Pubbl* 2000, LVI 3-4: 263-272.

- 7) Romanowicz K, Misztal T, Barcikowski B. Genistein, a phytoestrogen, effectively modulates luteinizing hormone and prolactin secretion in ovariectomized ewes during seasonal anestrus. *Neuroendocrinology* 2004, 79(2): 73-81.
- 8) Kanno S, Hirano S, Kayama F. Effects of phytoestrogens and environmental estrogens on osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells. *Toxicology* 2004, 196(1-2): 137-45.
- 9) Harris RM, Wood DM, Bottomley L, Blagg S, Owen K, Hughes PJ, Waring RH, Kirk CJ. Phytoestrogens are potent inhibitors of estrogen sulfation: implications for breast cancer risk and treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 89(4): 1779-87.
- 10) Johansson M, Nilsson S, Lund BO. Interactions between Methylsulfonyl PCBs and the Glucocorticoid Receptor. *Environ Health Perspect* 1998, 106(12): 769-772.
- 11) Machala M, Blaha L, Lehmler HJ, Pliskova M, Majkova Z, Kapplova P, Sovadinova I, Vondracek J, Malmberg T, Robertson LW. Toxicity of hydroxylated and quinoid PCB metabolites: inhibition of gap junctional intercellular communication and activation of aryl hydrocarbon and estrogen receptors in hepatic and mammary cells. *Chem Res Toxicol* 2004, 17(3): 340-7.
- 12) Salama J, Chakraborty TR, Ng L, Gore AC. Effects of polychlorinated biphenyls on estrogen receptor-beta expression in the anteroventral periventricular nucleus. *Environ Health Perspect* 2003, 111(10): 1278-82.
- 13) Aoki Y. Polychlorinated biphenyls, polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters - What we have learned from Yusho Disease. *Environmental Research Section A* 2001, 86: 2-11.
- 14) Shade L, Beger RD, Wilkes JG. The use of carbon thirteen nuclear magnetic resonance spectra to predict dioxin and furan binding affinities to the aryl hydrocarbon receptor. *Environ Toxicol Chem* 2003, 22(3): 501-9.
- 15) Okubo T, Suzuki T, Yokoyama Y, Kano K, Kano I. Estimation of estrogenic and anti-estrogenic activities of some phthalate diesters and monoesters by MCF-7 cell proliferation assay in vitro. *Biol Pharm Bull* 2003, 26(8): 1219-24.
- 16) Borch J, Ladefoged O, Hass U, Vinggaard AM. Steroidogenesis in fetal male rats is reduced by DEHP and DINP, but endocrine effects of DEHP are not modulated by DEHA in fetal, prepubertal and adult male rats. *Reprod Toxicol* 2004, 18(1): 53-61.
- 17) Von Sal F, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nage SC, Stetano P, Welshons WV. A physiologically based approach to the study of bis-phenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behaviour. *Toxicol Ind Health* 1998; 14: 239-260.
- 18) Fujimoto Y, Sakuma S, Nishiwaki Y, Ikeda M, Fujita T. Effects of endocrine disruptors on arachidonic acid metabolism in rabbit platelets. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003, 189(2): 96-9.
- 19) Kwack SJ, Kwon O, Kim HS, Kim SS, Kim SH, Sohn KH, Lee RD, Park CH, Jeung EB, An BS, Park KL. Comparative evaluation of alkylphenolic compounds on estrogenic activity in vitro and in vivo. *J Toxicol Environ Health A* 2002, 65 (5-6): 419-31.
- 20) Walsh LP, Stocco DM. Effects of lindane on steroidogenic acute regulatory protein expression. *Biol Reprod* 2000, 63(4): 1024-33.
- 21) Rawlings NC, Cook SJ, Waldbilling D. Effects of the pesticides carbofuran, chlopyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D, and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *J Toxicol Environ Health A* 1998, 54(1): 21-36.
- 22) Sarkar R, Mohanakumar KP, Chowdhury M. Effects of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in adult male rats. *J Reprod Fertil* 2000, 118(1): 29-38.
- 23) Scippo ML, Argiris C, Van De Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J, Maghuin-Rogister G. Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Anal Bioanal Chem* 2004, 378(3): 664-9.
- 24) Sanderson JT, Boerma J, Lansbergen GW, van der Berg M. Induction and inhibition of aromatase (CYP19) activity by various classes of pesticides in H295R human adrenocortical carcinoma cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002, 182(1): 44-54.
- 25) Morinaga H, Yanase T, Nomura M, Okabe T, Goto K, Harada N., Nawata H. A benzimidazole fungicide, benomyl, and its metabolite,

- carbendazim, induce aromatase activity in a human ovarian granulosa-like tumor cell line (KGN). *Endocrinology* 2004, 145(4): 1860-9.
- 26) Vinggaard AM, Nellemann C, Dalgaard M, Jorgensen EB, Andersen HR. Antiandrogenic effects in vitro and in vivo of the fungicide prochloraz. *Toxicol Sci* 2002, 69(2): 334-53.
 - 27) Walsh LP, Webster DR, Stocco DM. Dimethoate inhibits steroidogenesis by disrupting transcription of the steroidogenic acute regulatory (StAR) gene. *Endocrinology* 2000, 167(2): 253-63.
 - 28) Sohoni P, Lefevre PA, Ashby J, Sumpter JP. Possible androgenic/anti-androgenic activity of the insecticide fenitrothion. *J Appl Toxicol* 2001, 21(3): 173-8.
 - 29) Martin MB, Reiter R, Pham T, Avellanet YR, Camara J, Lahm M, Pentecost E, Pratap K, Gilmore BA, Divekar S, Dagata RS, Bull JL, Stoica A. Estrogen-like activity of metals in MCF-7 breast cancer cells. *Endocrinology* 2003, 144(6): 2425-36.
 - 30) Choe SY, Kim SJ, Kim HG, Lee JH, Choi Y, Lee H, Kim Y. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Sci Total Environ* 2003, 312(1-3): 15-21.
 - 31) Tchernitchin NN, Clavero A, Mena MA, Unda C, Villagra R, Cumille M, Tchernitchin AN. Effect of chronic exposure to lead on estrogen action in the prepubertal rat uterus. *Environ Toxicol* 2003, 18(4): 268-77.
 - 32) Sharara FI, Seifer DB, Flaws JA. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertility and Sterility* 1998, 70(4): 613-622.
 - 33) Nakaia N, Murata M, Nagahama M, Hirase T, Tanaka M, Fujikawa T, Nakao N, Nakashima K, Kawanishi S. Oxidative DNA damage induced by toluene is involved in its male reproductive toxicity. *Free Radic Res* 2003, 37(1): 69-76.
 - 34) Brown NA, Lamb JC, Brown SM, Neal BH. A review of the developmental and reproductive toxicity of styrene. *Regul Toxicol Pharmacol* 2000, 32(3): 228-47.
 - 35) Fenner-Crisp PA. Endocrine Modulators: Risk Characterization and Assessment. *Toxicologic Pathology* 2000, 28(3): 438-440.
 - 36) Ansar Ahmed S. The immune system as a potential target for environmental estrogens (endocrine disruptors): a new emerging field. *Toxicology* 2000, 150: 191-206.
 - 37) Tilson HA. Developmental Neurotoxicology of endocrine disruptors and pesticides: Identification of information gaps and research needs. *Environ Health Perspect* 1998, 106(3): 807-811.
 - 38) Mayani A, Barel S, Soback S, Almagor M. Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997, 12: 373-5.
 - 39) Fein GG, Jacobson JL, Jacobson SW, Schwartz PM, Fowler JK. Prenatal exposure to Polychlorinated biphenyls: effects on birth size and gestational age. *J Pediatr* 1984, 105: 315-20.
 - 40) Hauser R, Altshul L, Chen Z, Ryan L, Overstreet J, Schiff I, Christiani DC. Environmental Organochlorines and Semen Quality: Results of a pilot study. *Environ Health Perspect* 2002, 110(3): 229-233.
 - 41) Safe SH. Endocrine Disruptors and Human health - Is There a Problem? An Update. *Environ Health Perspect* 2000, 108(6): 487-493.
 - 42) Bohannon AD, Cooper GS, Wolff MS, Meier DE. Exposure to 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDT) in relation to bone mineral density and rate of bone loss in menopausal women. *Arch Environ Health* 2000, 55(6): 386-390.
 - 43) Johnson RA, Harris RE, Wilke RA. Are pesticides really endocrine disruptors?. *WMJ* 2000, 99(8): 34-8.
 - 44) Guillette LJ Jr. Organochlorine pesticides as endocrine disruptors in wildlife. *Cent Eur J Public Health* 2000, 8 suppl.: 34-5.
 - 45) Hayes TB, Collins A, Lee M, Mendoza M, Noriega N, Stuart AA, Vonk A. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99(8): 5476-80.
 - 46) Baatrup E, Junge M. Antiandrogenic pesticides disrupt sexual characteristics in the adult male guppy *Poecilia reticulata*. *Environ Health Perspect* 2001, 109(10): 1063-70.
 - 47) Singleton DW, Khan SA. Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. *Front Biosci* 2003, 1; 8: S110-8.
 - 48) Akingbemi BT, Hardy MP. Oestrogenic and antiandrogenic chemicals in the environment: effects on male reproductive health. *Ann Med* 2001, 33(6): 391-403.
 - 49) Sultan C, Balaguer P, Terouanne B, Georget V, Paris F, Jeandel C, Lumbroso S, Nicolas J. Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. *Mol Cell Endocrinol* 2001, 10, 178(1-2): 99-105.
 - 50) Hodges LC, Bergerson JS, Hunter DS, Walker CL. Estrogenic effects of organochlorine pesticides on uterine leiomyoma cells in vitro. *Toxicol Sci* 2000, 54(2): 355-64.
 - 51) Garey J, Wolff MS. Estrogenic and antiprogesteragenic activities of pyrethroid insecticides. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, 29, 251(3): 855-9.
 - 52) Bell EM, Hertz-Picciotto I, Beaumont JJ. A Case-Control Study of Pesticides and Fetal death due to congenital anomalies. *Epidemiology* 2001, 12(2): 148-156.
 - 53) Quesada I, Fuentes E, Viso Leon MC, Soria B, Ripoll C, Nadal A. Low doses of the endocrine disruptor bisphenol-A and the native hormone 17 β -estradiol rapidly activate transcription factor CREB. *FASEB* 2002, 16:1671-1673.
 - 54) Takeuchi T, Tsutsumi O. Serum bisphenol A concentrations showed Gender differences, possibly linked to Androgen Levels. *Biochem Biophys Research Comm* 2002, 291: 76-78.
 - 55) Schönfelder G, Werner W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent Bisphenol A Accumulation in the Human Maternal-Fetal-Placental Unit. *Environ Health Perspect* 2002, 110(11): A703-A707.
 - 56) Peknicova J, Kyselova V, Buckiova D, Boubelik M. Effect of an Endocrine Disruptor on Mammalian Fertility. Application of Monoclonal Antibodies against Sperm Proteins as Markers for Testing Sperm Damage. *Am J Reprod Immunol* 2002, 47: 311-318.
 - 57) B.J:Davis, R.R:Maronpot, J:J:Heindel. Di-(2-ethylhexyl)phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994, 128: 216-223.
 - 58) van Wezel AP, van Vlaardingen P, Posthumus R, Crommentuijn GH, Sijm DT. Environmental risk limits for two phthalates, with special emphasis on endocrine disruptive properties. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000, 46(3): 305-321.
 - 59) Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, Zirkin BR, Hardy MP. Phthalate-induced Leyding cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101(3): 775-80.
 - 60) Fischer JS. Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome. *Reproduction* 2004, 127(3): 305-15.
 - 61) Latini G, Felice C, Presta G, Del Vecchio A, Parisi I, Ruggeri F, Mazzeo P. Exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate in humans during pregnancy. A preliminary report. *Biol Neonate* 2003, 83(1): 22-4.
 - 62) Adibi JJ, Perera FP, Jedrychowski W, Camann DE, Barr D, Jacek R, Whyatt RM. Prenatal exposure to phthalates among women in New York city and Krakow, Poland. *Environ Health Perspect* 2003, 111(14): 1719-22.
 - 63) Pant N, Upadhyay G, Pandey S, Mathur N, Saxena DK, Srivastava SP. Lead and Cadmium concentration in the seminal plasma of man in the general population: correlation with sperm quality. *Reprod Toxicol* 2003, 17(4): 447-450.
 - 64) Hjollund NH, Bond JP, Jensen TK, Ernst E, Henriksen TB, Kolstad HA, Giwercman A, Skakkebaek NE, Olsen J. Semen quality and sex hormones with reference to metal welding. *Reprod Toxicol* 1998, 12(2): 91-95.
 - 65) Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. The toxicology of mercury - current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med* 2003, 349(18): 1731-1737.
 - 66) Ohno K, Azuma Y, Date K, Nakano S, Kobayashi T, Nagao Y, Yamada T. Evaluation of styrene oligomers eluted from polystyrene for estrogenicity in estrogen receptor binding assay, reporter gene assay, and uterotrophic assay. *Food Chem Toxicol* 2003, 41(1): 131-41.
 - 67) Date K, Ohno K, Azuma Y, Hirano S, Kobayashi T, Sakurai T, Nobuhara Y, Yamada T. Endocrine-disrupting effects of styrene oligomers that migrated from polystyrene containers into food. *Food Chem Toxicol* 2002, 40(1): 65-75.
 - 68) Kitamura S, Ohmegi M, Sanoh S, Sugihara K, Yoshihara S, Fujimoto N, Ohta S. Estrogenic activity of styrene oligomers after metabolic activation by rat liver microsomes. *Environ Health Perspect* 2003, 111(3): 329-34.
 - 69) Ohyama KI, Nagai F, Tsuchiya Y. Certain styrene oligomers have proliferative activity on MCF-7 human breast tumor cells and binding affinity for human estrogen receptor. *Environ Health Perspect* 2001, 109(7): 699-703.

- 70) Romanowicz K, Misztal T, Barcikowski B. Genistein, a phytoestrogen, effectively modulates luteinizing hormone and prolactin secretion in ovariectomized ewes during seasonal anestrus. *Neuroendocrinology* 2004, 79(2): 73-81.
- 71) Masutomi N, Shibutani M, Takagi H, Uneyama C, Hirose M. Dietary influence on the impact of ethinylestradiol-induced alterations in the endocrine/reproductive system with perinatal maternal exposure. *Reprod Toxicol* 2004, 18(1): 23-33.
- 72) Degen GH, Bolt HM. Endocrine disruptors: update on xenoestrogens. *Int Arch Occup Environ Health* 2000,73: 433-441.
- 73) Petrelli G, Musti M, Figà-Talamanca I. Esposizione a Pesticidi in serra e fertilità maschile. *G Ital Med Lav Erg* 2000, 22(4): 291-295.
- 74) Arbuckle TE, Savitz DA, Mery LS, Curtis KM. Exposure to Phenoxy herbicides and the risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* 1999, 10(6): 752-760.
- 75) Petrelli G, Lauria L, Figà-Talamanca I. Esposizioni occupazionali e fertilità maschile. Risultati di uno studio multicentrico tra popolazioni esposte. *Med Lav* 2001, 92(5): 307-313.
- 76) Figà-Talamanca I, Traina ME, Urbani E. Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. *Occup Med* 2001, 51(3): 174-188.
- 77) Figà-Talamanca I, Petrelli G, Tropeano R, Papa G, Boccia G. Fertility of male workers of the Italian mint. *Reprod Toxicol* 2000, 14: 325-330.
- 78) Bonde JPE, Joffe M, Danscher G, Apostoli P, Bisanti L, Giwercman A, Kolstad HA, Thonneau P, Roeleveld N, Vanhoorne M. Objectives, design and populations of European Asclepios study on occupational hazards to male reproductive capability. *Scand J Work Environ Health* 1999, 25 suppl 1: 49-61.
- 79) Kolstad HA, Bonde JP, Spano M, Giwercman A, Zschesche W, Kaae D, Larsen SB, Roeleveld N. Change in semen quality and sperm chromatin structure following occupational styrene exposure. *ASCLEPIOS. Int Arch Occup Environ Health* 1999, 72(3): 135-41.
- 80) Kolstad HA, Bonde JP, Spano M., Giwercman A, Zschesche W, Kaae D, Roeleveld N. Sperm chromatin structure and semen quality following occupational styrene exposure. *Scand J Work Environ Health* 1999, 25 suppl 1: 70-73.
- 81) Kolstad HA, Bisanti L, Roeleveld N, Baldi R, Bonde JP, Joffe M. Time to pregnancy among male workers of the reinforced plastics industry in Denmark, Italy and Netherlands. *ASCLEPIOS. Scand J Work Environ Health* 2000, 26(4): 353-8.
- 82) Kolstad HA, Bisanti L, Roeleveld N, Bonde JP, Joffe M. Time to pregnancy for men occupationally exposed to styrene in several European reinforced plastics companies. *ASCLEPIOS. Scand J Work Environ Health* 1999, 25 suppl 1:66-9.
- 83) Harkonen K, Viitanen T, Larsen SB, Bonde JP, Lahdetie J. Aneuploidy in sperm and exposure to fungicides and lifestyle factors. *ASCLEPIOS. A European concerted action on occupational hazards to male reproductive capability. Environ Mol Mutagen* 1999, 34(1): 39-46.
- 84) Larsen SB, Spano M, Giwercman A, Bonde JP. Semen quality and sex hormones among organic and traditional Danish farmers. *ASCLEPIOS Study group. Occup Environ Med* 1999, 56(2): 139-44.
- 85) Thonneau P, Abell A, Larsen SB, Bonde JP, Joffe M, Clavert A, Ducot B, Multigner L, Danscher G. Effects of pesticide exposure on time to pregnancy: results of a multicenter study in France and Denmark. *ASCLEPIOS study group. Am J Epidemiol* 1999, 150(2): 157-63.
- 86) Joffe M, Bisanti L, Apostoli P, Kiss P, Dale A, Roeleveld N, Lindbohm ML, Sallmen M, Vanhoorne M, Bonde JP; ASCLEPIOS. Time to pregnancy and occupational lead exposure. *Occup Environ Med* 2003 60(10): 752-8.
- 87) Aschengrau A, Coogan PF, Quinn MM, Cashins LJ. Occupational Exposure to Estrogenic Chemicals and the occurrence of Breast Cancer: an exploratory analysis. *Am J Ind Med* 1998, 34: 6-14.
- 88) Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occup Environ Med* 2002, 59: 625-628.
- 89) Rogan WJ, Glanden BC, Wilcox AJ. Potential Reproductive and postnatal morbidity from exposure to polychlorinated Bisphenyls: Epidemiologic Considerations. *Environ Health Persp* 1985, 60: 233-239.
- 90) Mutti A, Vescovi PP, Falzoi M, Arfini G, Valenti G, Franchini I. Neuroendocrine effects of styrene on occupationally exposed workers. *Scand J Work Environ Health* 1984, 10(4): 225-8.
- 91) Taskinen H, Ahlborg G jr. Assessment of reproductive risk at work. *Int J Occup Environ Health* 1996, 2: 59-63.
- 92) Rosenberg CR, Mulvihill MN, Fischbein A, Blum S. An analysis of validity of self reported occupational histories using a cohort of workers exposed to PCBs. *Brit J Ind Med* 1987, 44: 702-710.
- 93) Willman EJ, Hertz-Picciotto I, A.Keller J, Martinez E, Charles MJ. A reproducible approach to the reporting of organochlorine compounds in epidemiologic studies. *Chemosphere* 2001, 44: 1395-1402.
- 94) Joffe M. Epidemiology of occupational reproductive hazards: methodological aspects. *Rev Epidém Santé Publ* 1992, 40: S17-S25.
- 95) Figà-Talamanca I, Giordano F. Applicazioni dell'epidemiologia per la tutela della salute riproduttiva. *G Ita Med Lav Erg* 2003, 25(3): 416-417.
- 96) Taskinen HK. Nordic Criteria for Reproductive Toxicology. *JOEM* 1995, 37(8): 970-973.
- 97) Taskinen HK. Prevention of reproductive health hazards at work. *Scand J Work Environ Health* 1992, 18 (Suppl 2): 27-9.
- 98) De Vito M, Biegel L, Brown A, Brucker-Davis F, Cheek AO, Christensen R, Colborn T, Cooke P, Crissman J, Crofton K, Doerge D, Gray E, Hauser P, Hurley P, Kohn M, Lazar J, McMaster S, McClain M, McConnell E, Meier C, Miller R, Tietge J, Tyl R. Screening methods for thyroid hormone disruptors. *Environ Health Perspect* 1999, 107(5): 407-413.
- 99) Juberg DR. An evaluation of Endocrine Modulators: Implications for human health. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000, 45: 93-105.
- 100) Hoyer PB. Reproductive toxicology: current and future directions. *Biochem Pharmacol* 2001, 62(12): 1557-64.
- 101) Crews D, Willingham E, Skipper JK. Endocrine disruptors: present issues, future directions. *Q Rev Biol* 2000, 75(3): 243-260.

Richiesta estratti: Bruno Papaleo, b.papaleo@tin.it - ISPESL - Via Fontana Candida 1, 00040 Monteporzio Catone - Roma, Italy - Tel. 0694181456 - Fax 0694181410