

Doc. N. 2309/10



Coordinamento Regionale per le Malattie Rare - Regione del Veneto

Registro Malattie Rare - Regione del Veneto

Registro Nascita - Regione del Veneto

Unità di Epidemiologia e Medicina di Comunità

Università di Padova

Tel. 049 8215700, fax 049 8215701

e-mail malattierare@regione.veneto.it; registronascita@regione.veneto.it

REGIONE DEL VENETO - GIUNTA REGIONALE	
DIREZIONE PREVENZIONE	
SICUREZZA ALIMENTARE, VETERINARIA	
Data di arrivo	
Data registraz.	11 APR. 2017
Prot. N.	14430
Indice classificazione	Pratica / Fascicolo
C101	

Padova, 7 aprile 2017

Prot.: 291/2017

Osservazioni circa i commenti sullo studio sugli esiti materni neonatali in relazione alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche firmata dal Prof. Angelo Moretto per conto della ditta Miteni.

La presente nota è articolata in tre parti: la prima riportante la sintesi dello stato dell'arte dell'evidenza scientifica con i relativi riferimenti bibliografici, la seconda riportante la sintesi dei principali risultati dello studio con un commento circa la loro coerenza con le evidenze scientifiche della letteratura e infine una terza parte presentante le risposte dettagliate alle contestazioni puntuali mosse dal Prof. Moretto, tecnico di parte della ditta Miteni. Non si vuole infatti che la complessità del problema e la globalità delle conoscenze tratte nella situazione del Veneto, siano mascherate da commenti puntuali, che non affrontano mai la centralità delle evidenze scientifiche ottenute, squalificandole solo con commenti generici e non contestualizzati.

PRIMA PARTE: lo stato dell'arte dell'evidenza scientifica

La letteratura scientifica internazionale ha indicato l'associazione tra l'esposizione a PFAS ed un ampio spettro di esiti biologici interessanti più sistemi e metabolismi. Sfortunatamente la maggior parte delle conoscenze acquisite riguardano studi sperimentali su animali quali ratti, topi, e, parzialmente, scimmie, mentre gli studi sugli effetti nell'uomo sono più ristretti e solo in parte conclusivi. Pur con queste limitazioni, sono stati evidenziati effetti sul metabolismo lipidico, con ipercolesterolemia, legata alla frazione LDL^{1,2,3,4,5,6,7,8,9}, con ipotizzato aumento del rischio di malattie ischemiche cardiache e cerebrali^{10,11}, alterazione della funzione tiroidea¹², squilibrio dell'immunità cellulare^{13,14} con aumento del rischio per colite ulcerosa^{15,16} e dell'immunità umorale con supposta minor risposta vaccinale^{17,18,19,20}, aumento dell'acido urico^{21,22,23,24,25,26,27}, e di alcuni enzimi epatici²⁸. E' stato anche riportato l'aumento di rischio

di diabete, mentre gli studi sui soggetti sottoposti ad altissime esposizioni dimostrano un aumento del rischio di tumori del testicolo^{29,30} e del rene^{29,30}.

Rispetto alla sfera riproduttiva, sono state segnalate diminuzione della fertilità femminile³¹, mentre gli studi sulla fertilità maschile sono ad ora del tutto inconcludenti³¹. È stato inoltre evidenziato un maggior rischio di ipertensione in gravidanza^{32,33,34,35}, restrizione della crescita fetale e del peso alla nascita. Per la restrizione della crescita fetale, anche se prima del 2013 le evidenze al riguardo erano inconsistenti (alcuni identificavano un'associazione con la riduzione della crescita fetale, mentre altri non osservavano un'associazione significativa)^{32,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45}, gli studi più recenti indicano l'esistenza di una relazione inversamente proporzionale tra PFAS e crescita fetale^{34,46,47,48,49}, tanto che recenti revisioni della letteratura hanno concluso affermando che sono disponibili sufficienti evidenze per sostenere l'esistenza di un'associazione tra PFAS (PFOA in particolare) e restrizione della crescita fetale, basandosi sia su evidenze tratte da studi epidemiologici sugli esseri umani⁵⁰ che sull'animale da esperimento⁵¹. È stato dimostrato anche nell'uomo il passaggio dei PFAS dal sangue materno al cordone ombelicale, alla placenta e al liquido amniotico⁵². Un secondo elemento rilevante conosciuto è la presenza di PFAS nel latte materno^{53,54,55,56,57,58,59} e l'assunzione delle sostanze da parte del nato, anche attraverso questa seconda via. La distribuzione dei PFAS nell'organismo del nato è in parte specifica e differente da quella dell'adulto. Infatti, oltre ad un accumulo epatico, comune anche con l'adulto, è stata dimostrata la presenza di PFAS nel tessuto cerebrale dei ratti⁶⁰, indicando il passaggio attraverso la barriera ematoencefalica, del tutto marginale per l'adulto. Sono ancora discusse e oggetto di numerosi studi le relazioni tra l'esposizione a PFAS del feto e del nato e la presenza di malformazioni⁶¹ e gravi ritardi dello sviluppo. I PFAS stabiliscono dei legami molto solidi con le proteine e vengono veicolati attraverso di essi, dimostrando una particolare affinità per alcuni loro componenti, in particolare per gli amminoacidi neutri quali valina, isoleucina, leucina, ecc. Tra i meccanismi di trasporto o carrier che veicolano le sostanze nei diversi distretti del corpo (ad esempio all'interno del cervello) alcuni si legano specificamente a questi amminoacidi neutri e sono perciò competitivi con il trasporto di un altro amminoacido, il triptofano, sostanza essenziale per lo sviluppo cerebrale durante la vita fetale e immediatamente dopo la nascita. Studi ripetuti sull'animale da esperimento dimostrano che i nati, esposti durante la vita fetale e in seguito neonatale a contaminazione con PFAS e sacrificati in diverse giornate dopo la nascita presentano alti livelli di PFAS nel tessuto cerebrale e vistose ed evidenti alterazioni anatomiche della sua microstruttura. Gli stessi soggetti presentano in vita un ritardo grave dello sviluppo, e di alcune funzioni quali quella visiva e motoria in diretta relazione con la quantità di PFAS assunti. Questi studi sostanziano l'ipotesi che il feto, durante la vita intrauterina, ed il nato, attraverso l'allattamento, siano soggetti sensibili ai potenziali effetti nocivi dei PFAS^{62,63,64,65}.

SECONDA PARTE: sintesi dei principali risultati

Lo studio condotto ha comportato l'utilizzo di più fonti indipendenti che raccolgono prospettivamente l'informazione sulla condizione delle gravide, delle partorienti e delle puerpere e dei relativi nati del Veneto a partire dall'anno 2002. Da quell'anno infatti tutti i punti nascita del Veneto, pubblici e privati, sono collegati in rete e per ogni donna partoriente viene compilata una scheda riguardante l'anamnesi della gravidanza, degli eventi riproduttivi precedenti e successivamente degli accadimenti durante il parto e il puerperio, oltre che della sopravvivenza e salute dei nati. Da questi elementi vengono ricavate le cartelle delle sale parto, i movimenti del blocco parto, vengono stampati gli attestati di nascita indispensabili per effettuare la dichiarazione di nascita, oltre che desunti i flussi informativi obbligatori inviati ciascun anno al Ministero e poi all'ISTAT. La seconda fonte utilizzata è costituita dalle schede di dimissione ospedaliera, interessanti le donne che hanno avuto una gravidanza e un parto dal 2002 al 2015 e il sistema informativo per i malati rari (o registro malati rari), attivo in Regione dal 2002. Si sono poi utilizzate anche le informazioni riguardanti le prescrizioni di particolari farmaci direttamente indicatori di specifiche patologie, ad esempio tiroidee. Le fonti utilizzate sono indipendenti e hanno permesso di ricostruire tutte le coorti di partorienti e nati, a partire dal 2002, prospettiche fino all'età di un anno per i nati e retrospettive fino all'esordio della gravidanza per le madri. Si tratta di oltre 556.000 parti e circa 565.000 nati in Veneto completamente monitorati. In base al comune di residenza sono state definite delle aree esposte alla contaminazione con i PFAS (in ordine decrescente di livello di contaminazione dell'acqua potabile: rossa con 21 comuni 126.776 residenti, 15.365 parti e 15.582 nati; arancione: 50 comuni, 263.104 residenti, 30.803 parti e 31.241 nati; gialla: 56 comuni, 371.472 residenti, 45.851 parti e 46.562 nati) e un'area non esposta di controllo (area verde: 50 comuni, 605.642 residenti, 74.387 parti 75.608 nati). Per ciascuna madre e ciascun nato sono stati valutati una serie di outcome riguardanti la sfera della fertilità (aborti spontanei, IVG, PMA e tassi di fertilità), la salute materna (andamento della gravidanza, diabete gestazionale, preeclampsia, patologia della tiroide) e quella del nato (età gestazionale, pesi alla nascita relativi ai pesi patologici per età gestazionale (SGA), presenza di malformazioni maggiori alla nascita o diagnosticate entro l'età di un anno). Per ogni donna ed ogni nato sono stati poi valutate una serie di variabili note per poter entrare nella catena di causa di alcuni esiti sfavorevoli sia per la donna che per il nato, quali età materna, la nazionalità, la gemellarità, la storia riproduttiva precedente, la condizione di primipara, il sesso e la vitalità del nato e l'anno in cui è avvenuto il parto. Tutte queste variabili sono state considerate come covariate e utilizzate nelle analisi multivariate (analisi logistica) per il calcolo del rischio aggiustato dell'esposizione ai PFAS, a parità quindi delle altre condizioni teoricamente influenti l'esito.

Tra tutti gli outcome studiati, per quattro l'associazione con l'esposizione ai PFAS è risultata più rilevante: il diabete materno e la preeclampsia per la mamma e il basso peso per età gestazionali (SGA) e le malformazioni cerebrali per il nato. Per quanto attiene il diabete gestazionale nell'area rossa il 5,5% delle gravide (440) lo ha presentato contro un 3,13% (1.183) di quelle dell'area verde, con un trend chiaramente decrescente attraverso l'area arancione e gialla (4,42% e 4,10% rispettivamente). Il rischio relativo (RR) dell'area rossa rispetto alla verde è di 1,76 (95%IC 1,58-1,96; $p < 0,0001$). OR aggiustato in relazione alle variabili sopra indicate è di 1,69 (95%IC 1,51-1,90; $p < 0,0001$). Ciò significa che le gravide dell'area rossa hanno avuto una probabilità del 69% in più di avere diabete in gravidanza rispetto a quelle dell'area di controllo a parità di età, nazionalità e altre variabili influenti. L'associazione tra esposizione a PFAS e diabete in gravidanza è significativa, con una probabilità di errore in questa assunzione più bassa di una su 10.000.

La preeclampsia ha interessato il 4,58% (366) delle donne dell'area rossa e il 3,25% (1.232) delle donne dell'area verde di confronto. Il RR dell'area rossa rispetto all'area verde è di 1,41 (95%IC 1,25-1,58; $p < 0,0001$). L'OR aggiustato per le covariate o variabili potenzialmente influenti è di 1,49 (95%IC 1,32-1,69; $p < 0,0001$). Anche in questo caso i dati dimostrano che le gravide residenti in area rossa hanno avuto il 49% di probabilità in più di avere una preeclampsia in gravidanza rispetto a quelle dell'area verde a parità degli altri più importanti elementi determinanti. Per quanto attiene il basso peso alla nascita (SGA), i nati nell'area rossa l'hanno presentato nel 3,7% dei casi (580) contro il 2,9% (2.163) dell'area verde. Il RR dell'area rossa è di 1,3 (95%IC 1,19-1,42; $p < 0,001$). Questo dato globale del periodo si differenzia per gli anni che vanno fino al 2013 e per quelli successivi 2014-2015. A tale riguardo c'è da ricordare come nel 2014 siano stati posizionati filtri per l'acqua potabile in grado di abbattere la quantità di PFAS. Infatti nel periodo 2014-2015 il RR dell'area rossa si è abbattuto rendendo la probabilità di SGA dei nati di quest'area sovrapponibile a quella dell'area verde di controllo. Questi dati sono completamente confermati dalle analisi multivariate, che hanno permesso di calcolare un ODDS per SGA dell'area rossa in confronto dell'area verde di 1,30 (95%IC 1,19-1,43; $p < 0,0001$). Per quanto attiene le malformazioni del sistema nervoso centrale, la frequenza di tale evento è stata dello 0,51% (40 neonati su 7.859 nati) nell'area rossa e dello 0,11% (43 su 37.912 nati) nell'area verde. Le frequenze nell'area arancione e gialla sono regolarmente decrescenti. Il RR dell'area rossa è di 4,49 (95%IC 2,92-6,90; $p < 0,001$) e OR aggiustato per le altre covariate di 3,23 (95%IC 1,77-5,89; $p = 0,0001$).

Oltre alla entità dell'associazione e alla sua grande rilevanza statistica, si vuole qui mettere in chiaro come numerose altre evidenze, come ad esempio l'effetto protettivo del numero delle gravidanze precedenti, sia del tutto concorde con quanto definito in letteratura, dove gravidanza e allattamento sono considerati come emuntori che favoriscono il decadimento dei PFAS nel corpo materno. Anche il diverso apparente comportamento dell'associazione degli SGA e malformazioni cerebrali all'esposizione ai PFAS, trova sostanziale conferma nella letteratura, che considera due diversi meccanismi di tossicità al passaggio transplacentare delle sostanze, il primo legato al picco di assorbimento e il secondo al livello medio di esposizione. In conclusione i dati ricavati dallo studio dimostrano coerentemente nell'analisi descrittiva dei tassi, frequenze e trend temporali, in quella del RR grezzo e della sua significatività e in quelli del rischio aggiustato per altre variabili potenzialmente influenti, il peso dell'esposizione ambientale ai PFAS rispetto agli esiti di diabete in gravidanza, preeclampsia, nascita con basso peso per età gestazionale e malformazioni cerebrali.

TERZA PARTE: risposte dettagliate alle contestazioni puntuali mosse dal Prof Moretto

"Non è presentata alcuna elaborazione statistica, neanche la più elementare. Pertanto non si capisce se le eventuali apparenti differenze sono statisticamente significative, quali sono gli intervalli di confidenza etc."

Il documento probabilmente letto dal Prof. Moretto è ricco di elaborazioni quali frequenze grezze e specifiche, tassi, incidenze, prevalenze trend temporali ecc. Non è chiaro quindi cosa voglia significare il consulente asserendo che è assente qualsiasi elaborazione statistica anche la più elementare. Come in ogni studio, la norma è procedere in prima istanza ad una analisi descrittiva, come a quella cui si riferisce il Prof Moretto, e successivamente ad una analisi del rischio grezzo e dei rischi aggiustati. E' esattamente il modo di procedere che abbiamo utilizzato nel nostro studio e che, naturalmente, va valutato nel suo complesso e non soltanto nella sua prima parte del lavoro.

“Non è stata fatta alcuna analisi multivariata per correggere per differenze nella composizione delle diverse popolazioni; ad esempio:

- *Nell’area rossa sono più giovani (vedi tabella 3)*
- *Nell’area rossa sono presenti più donne straniere (vedi tabella 4)”*

Le analisi di regressione logistica, i cui risultati sono stati brevemente riportati nella sezione precedente per il calcolo dei rischi aggiustati, hanno permesso di valutare l’effetto dell’esposizione ai PFAS rispetto alla non esposizione nel determinare outcome sfavorevoli tenendo conto di covariate quali età materna, etnia, parità, tipo di gravidanza singola o multipla, sesso del nato, vitalità (nato vivo, nato morto), età gestazionale.

“Non è stata fatta alcuna verifica delle SDO”

Come già descritto il lavoro ha utilizzato più fonti informative. Gli outcome sfavorevoli sono stati valutati confrontando le varie fonti e considerando solo i casi di diagnosi consistente tra le varie fonti utilizzate. Questo modo di operare può ridurre l’evidenza dell’associazione, ma rende sicuramente certo che i casi selezionati con esito negativo siano veri.

“Si indica ripetutamente che alcuni dati sono “in accordo con la letteratura scientifica internazionale” ma non è citata tale letteratura né quali sono i dati di detta letteratura in accordo con i dati riportati nel documento.”

La bibliografia riportata in queste note costituisce solo una parte rilevante di quella effettivamente raccolta e analizzata. Di confronto il professore riporta una bibliografia con 15 citazioni di cui solo 2 successive al 2013, anno di svolta per quanto riguarda le interazioni tra PFAS e salute in gravidanza e nato.

“Il decorso della gravidanza è definito come fisiologico in una maggiore percentuale dei casi nell’area rossa (83.3%) rispetto alla media del Veneto (81.6%) (pag. 3)”

Non è necessario che una esposizione determini tutti gli esiti negativi possibili per avere degli effetti deleteri per la salute; quasi sempre una esposizione determina uno o più effetti o malattie ma non tutte le possibili malattie conosciute.

“Rischio definito elevato di pre-eclampsia nell’area rossa (4.46%) rispetto alla media del Veneto (3.6%): non è stata fatta alcuna correzione per etnia. È noto, infatti ad esempio, che le donne di origine africana e sud-est asiatica sono a maggior rischio di pre-eclampsia (si veda ad esempio, Jenum et al. Food Nutr Res 2013, 57, 18889).”

Le analisi multivariate hanno effettivamente corretto il rischio di preeclampsia per etnia e età materna. Come descritto nella seconda sezione il rischio aggiustato rimane comunque presente in modo significativo nelle esposte rispetto alle non esposte.

“Rischio definito elevato di diabete gestazionale nell’area rossa (5.35%) rispetto alla media del Veneto (3.13%): non è stata fatta alcuna correzione per etnia. È noto, infatti ad esempio, che le donne di origine africana e sud-est asiatica sono a maggior rischio di diabete gestazionale (si veda ad esempio, Jenum et al. Food Nutr Res 2013, 57, 18889).”

Le analisi multivariate hanno effettivamente corretto il rischio di diabete in gravidanza per etnia e età materna. Come descritto nella seconda sezione il rischio aggiustato rimane comunque presente in modo significativo nelle esposte rispetto alle non esposte.

“Non è stato fatto alcun controllo sulla SDO né una verifica sui criteri per la definizione di diabete gestazionale nei vari ospedali. È noto, infatti, che la classificazione proposta da WHO è più restrittiva della classificazione proposta dalla International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (si veda ad esempio, Jenum et al. Eur J Endocr 2012, 166:317-324) La considerazione sulle patologie tiroidee (fine di pag. 3) è del tutto ipotetica e non trova sostegno alcuno dai dati disponibili.”

Come già indicato le donne selezionate come affette da diabete in gravidanza sono state solo coloro che avevano una coerenza di dati tra l’anamnesi eseguita al momento del parto e disponibili presso il Registro Nascita positiva per diabete e l’evidenza di uno o più ricoveri effettuati durante la gravidanza con diagnosi alla dimissione di diabete materno. Si tratta come è evidente di un gruppo più ristretto di donne che si sono trovate nella condizione di una nuova insorgenza di diabete o di scompenso di diabete gravidico talmente rilevante da richiedere un ricovero ospedaliero durante la gravidanza. Abbiamo pertanto escluso le gravide con una forma cosiddetta di “prediabete” cioè con test di carico di diabete positivi ancora in assenza di una forma clinica, sintomatica ed evidente. L’atteggiamento ottenuto è stato quindi conservativo e tendente pertanto a sottovalutare la forza dell’associazione e non ad aumentarla.

“La natimortalità nell’area rossa (1.9 per mille, e non % come indicato nel testo del documento) è inferiore alla media del Veneto (2.5 per mille, e non % come indicato nel testo del documento): da questo, seguendo la logica del documento, si dovrebbe dedurre che c’è un effetto protettivo nel vivere nella zona rossa riguardo alla natimortalità.”

Sia nel testo, che in tutte le tabelle riferite alla natimortalità è riportato il simbolo “‰” che notoriamente indica “per mille” e non “per cento”. Il testo riporta un’analisi completa dei dati a disposizione e per onestà intellettuale riporta anche gli outcome per i quali diversamente da altri si è osservato un minor rischio in area rossa rispetto all’area verde.

“Peso alla nascita: da segnalare la discrepanza fra il segnalato decremento della SGA (piccoli per età gestazionale) “nell’ultimo biennio (dopo l’utilizzo dei filtri per gli acquadotti)” (pag. 4) nell’area rossa e l’accento posto nelle righe successive sull’aumento dei bassissimi pesi alla nascita nello stesso periodo. Non è chiaro come fenomeni che potrebbero far parte di un continuum biologico si comportino in modo opposto nelle stesse condizioni ambientali. D’altra parte, i pesi bassissimi sono legati di solito a nascite pre-termine, anche plurime, di cui non vi è alcuna valutazione nel documento.”

Come già in precedenza spiegato gli SGA sono i bambini che hanno un peso inferiore al limite della norma (3° centile) calcolato per l’età gestazionale, indipendentemente dal fatto di nascere pretermine o a termine. I nati sotto i 1.000 grammi o bassissimi pesi sono generalmente nati fortemente pretermine prima della 28 settimana, anche se di peso normale per la loro bassa età gestazionale. L’OMS e l’EUROSTAT hanno raccomandato agli Stati membri

di rilevare i nati di bassissime età gestazionale in base al loro peso alla nascita inferiore ai 1.000 grammi. Si tratta quindi di due fenomeni completamente diversi e di due patologie assolutamente dissimili. Infatti gli SGA per tutte le età gestazionali presentano un maggior rischio di mortalità tardiva (dopo il primo mese di vita), di morbosità e di gravi esiti funzionali, soprattutto cognitivi a distanza. Un bambino potrebbe nascere a termine e pesare 1.800 grammi ed essere un grave SGA con esiti a distanza perché nato di peso troppo basso rispetto a quello atteso rispetto alla sua età gestazionale ed avere quindi sofferto di un ambiente non favorevole al suo sviluppo durante la gestazione. Per questo motivo sono state effettuate analisi separate degli SGA e dei nati di peso inferiore ai 1.000 grammi e si è poi concentrata l'attenzione proprio sugli SGA. Poiché è noto che i gemelli nascono generalmente con un peso più basso e più frequentemente più prematuri degli altri nati, si è scelto nella prima descrittiva di analizzare l'associazione tra esposizione ai PFAS e SGA solo sui nati singoli. Successivamente, come già riferito nella seconda sezione, la gemellarità è stata introdotta nelle analisi multivariate per il calcolo del rischio aggiustato come covariata o possibile variabile influente. Il rischio aggiustato riferito di SGA è quindi indipendente dall'essere o meno gemello.

“Nella zona rossa le anomalie congenite maggiori alla nascita (2.9%) sono inferiori (nota: il documento riporta “non aumentata”) alla media del Veneto (3.0%) e della zona bianca in particolare (3.2%), e confrontabili a un anno di vita (zona rossa e media del Veneto 3.7%, ma 3.9% nella zona bianca)

Il documento sottolinea che:

- *le anomalie maggiori del sistema nervoso al primo anno di vita sono il 5.1 per mille nella zona rossa rispetto al 3.6 per mille della media del Veneto,*
- *quelle del sistema circolatorio sono lo 1.0 per mille nella zona rossa rispetto allo 0.6 per mille della media del Veneto,*
- *le anomalie cromosomiche sono il 2.2 per mille nella zona rossa rispetto allo 1.6 per mille della media del Veneto.*

Al di là del fatto che queste percentuali sono verosimilmente statisticamente non significative, il documento non sottolinea che l'incidenza di altre malformazioni sembra essere più bassa nella zona rossa, come ad esempio

- *i difetti agli arti che sono il 6.5 per mille nella zona rossa rispetto all'8.1 per mille della media del Veneto e all'8.6 per mille della zona bianca,*
- *i difetti delle vie urinarie che sono il 2.4 per mille nella zona rossa rispetto al 3.9 per mille della media del Veneto e al 4.3 per mille (quasi il doppio) della zona bianca.*
- *Peraltro anche il totale delle malformazioni maggiori è il 41.0 per mille nella zona rossa rispetto al 40.6 per mille della media del Veneto e al 42.3 per mille della zona bianca.*

Il documento non analizza e discute i dati riportati in tabella 17 relativi alle malformazioni alla nascita che mostrano un'incidenza totale nella zona rossa di 30.5 per mille, inferiore rispetto al 32.3 per mille della media del Veneto e al 33.7 per mille della zona bianca.”

Come già ribadito più volte di regola nessun fattore genetico, tossico, o infettivo determina contemporaneamente tutti gli esiti di salute negativi e tutte le malattie che si possono immaginare. Anche in questo caso il fatto che i difetti agli arti siano inferiori nella zona rossa rispetto alla media del Veneto o lo siano ugualmente quelli delle vie urinarie non toglie né

aggiunge nulla al fatto che le anomalie del sistema nervoso o malformazioni cerebrali siano significativamente più frequenti nei nati nell'area rossa che in quella di controllo. Alcune delle malformazioni che abbiamo analizzato sono comunque significativamente più frequenti nell'area rossa come ad esempio le anomalie dell'orecchio interno. Il contenuto numero di casi interessati rende però gli intervalli di confidenza dei rischi troppo ampi e quindi poco sostenibili per ulteriori analisi. Sempre per mantenere un atteggiamento di precauzione abbiamo evitato di condurre ulteriori analisi per questi gruppi di malformazioni e ci siamo concentrati invece in quelle cerebrali per varie ragioni: l'ampiezza nella differenza di frequenza degli eventi tra area esposta e non esposta da cui deriva l'alto rischio e la sua impressionante significatività, il relativo alto numero di casi (40) nell'area esposta che rendono solido il calcolo del rischio e il suo intervallo di confidenza, la coerenza con le evidenze sperimentali e la ragionevolezza eziopatologica di quanto da noi trovato.

"Il documento indica che la popolazione dell'area grigia "presenta alcune peculiarità che l'avvicinano all'area rossa" (pag. 4). Si osservi peraltro che questa popolazione differisce:

- per età,
- per nazionalità,
- per tasso di abortività,
- per Interruzione Volontaria di Gravidanza,
- per incidenza di gravidanze con decorso patologico,
- per natimortalità.

Il mancato controllo per tutte queste variabili rende impossibile qualsiasi confronto con la popolazione della zona rossa o di altre zone. Peraltro nella zona grigia

- *le citate malformazioni del sistema nervoso al primo anno di vita sono quasi la metà di quelle della zona rossa (2.8 vs 5.1 per mille), e inferiori alla media del Veneto (3.6 per mille);*
- *lo stesso dicasi per le anomalie maggiori del sistema circolatorio che sono 0 (zero) per mille nella zona grigia e 1.0 e 0.6 per mille nella zona rossa e in media nel Veneto.*

Il documento segnala un'aumentata incidenza al primo anno di vita di cardiopatie congenite (12.3 per mille vs 9.9 per mille in media in Veneto) e anomalie del sistema digerente (2.7 per mille vs 1.9 per mille in media in Veneto). Si noti che queste anomalie sono diverse da quelle segnalate nella zona rossa. L'incidenza di pre-eclampsia (3.4%) è inferiore a quella nella zona rossa (4.5%), arancio (3.9%) e gialla (4.0), e alla media del Veneto (3.6%). Per l'incidenza di diabete gravidico e altri parametri si applicano le considerazioni fatti più sopra relativamente alla zona rossa. Sulla base di queste considerazioni riesce difficile comprendere su quali basi si possa affermare che l'area grigia "presenta alcune peculiarità che l'avvicinano all'area rossa". Non si comprende, ad esempio, come malformazioni/anomalie diverse e di apparati diversi possano essere unificate sotto un unico meccanismo o agente causale."

Per assoluta completezza dell'informazione raccolta è stata definita un'area chiamata grigia proprio perché geograficamente attigua a quella rossa, più a nord di essa, ma diversa da quest'ultima perché servita da una serie di acquedotti in parte contaminati e in parte non contaminati. L'esposizione della popolazione quindi attraverso l'acqua potabile è diversa dalle altre zone omogeneamente interessate, in quanto parzialmente esposte e parzialmente no. Per tale motivo non stupisce che per alcuni aspetti possa assomigliare all'area rossa o arancione e per altri invece differenziarsi da essi. Ciò comunque non toglie e non aggiunge niente all'analisi condotta e alle conclusioni descritte in queste note. In quanto poi al fatto di

non comprendere come alcune anomalie diverse possano essere causate da un unico agente, questa affermazione è palesemente in contrasto con quanto asserito nei punti precedenti, nei quali il consulente si lamentava appunto che non tutte le patologie o le malformazioni risultavano ugualmente associate ai livelli di esposizione dei PFAS.

“In conclusione questo documento si presenta come una raccolta disordinata di dati, che non sono stati analizzati adeguatamente e dai quali sono state tratte delle conclusioni arbitrarie che non trovano alcun fondamento nei dati presentati, né nei dati di letteratura. Invece, una valutazione complessiva dei dati, associata ad una corretta comprensione dei dati di letteratura, porta a concludere che non si sono osservate incidenze di patologie superiori all’atteso e che variazioni per eccesso e per difetto rientrano nella variabilità che si osserva normalmente in tutte le popolazioni oggetto di valutazioni epidemiologiche. Si ritiene pertanto che si debba preliminarmente eseguire una adeguata analisi statistica dei dati, controllando per tutti i fattori di confondimento e per l’effetto dei confronti multipli. Successivamente, se i dati indicassero degli eccessi di una qualche patologia, questi devono essere valutati in rapporto ai dati epidemiologici esistenti e alla letteratura tossicologica sperimentale. Qualora, fatta questa analisi, si identificassero degli effetti nelle zone di interesse (rossa e grigia) potrebbe essere ragionevole procedere a valutazioni individuali compreso il biomonitoraggio. Solo con queste premesse l’impegno di risorse economiche e umane avrebbe senso. Occorre inoltre menzionare che trarre conclusioni affrettate e non giustificate dai dati crea ansia e indebite preoccupazioni nella popolazione interessata.”

Sfortunatamente per il consulente, tutti i passi che lui suggerisce di compiere, sono stati effettivamente compiuti e i dati da noi presentati indicano chiaramente un eccesso di quattro patologie (diabete materno, preeclampsia, SGA e malformazioni del sistema nervoso) nelle aree a più alta contaminazione di PFAS attraverso l’acqua potabile e questi dati sono assolutamente consistenti e coerenti con i dati epidemiologici e delle sperimentazioni sugli animali presenti in letteratura. Siamo quindi rassicurati nel pensare che anche il consulente Prof Moretto, pur nella sua lettura superficiale e di parte, ritenga che l’impegno di risorse economiche ed umane nello svolgere ulteriori studi di biomonitoraggio nelle gravide sia in questo caso giustificato e necessario.

Prof.ssa Paola Facchin
Responsabile Registro Nascita
Regione del Veneto



-
- ¹ Geiger, SD, J Xiao e A. Shankar. «Positive association between perfluoroalkyl chemicals and hyperuricemia in children.» *American Journal of Epidemiology* (2013).
- ² Fitz-Simon, N., Fletcher, T., Luster, M., Steenland, K., Calafat, A., Kato, K., & Armstrong, B. (2013). Reductions in serum lipids with a 4-year decline in serum perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonic acid. *Epidemiology*.
- ³ Steenland, K., Tinker, S., Frisbee, S., Ducatman, A., & Vaccarino, V. (2009). Association of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate with serum lipids among adults living near a chemical plant. *American Journal of Epidemiology*.
- ⁴ Fisher, M., Arbuckle, T., Wade, M., & Haines, D. (2013). Do perfluoroalkyl substances affect metabolic function and plasma lipids?--Analysis of the 2007-2009, Canadian Health Measures Survey (CHMS) Cycle 1. *Environmental Research*.
- ⁵ Frisbee, S., Shankar, A., Knox, S., Steenland, K., Savitz, D., Fletcher, T., & Ducatman, A. (2010). Perfluorooctanoic acid, perfluorooctanesulfonate, and serum lipids in children and adolescents: results from the C8 Health Project. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*.
- ⁶ Zeng, X., Qian, Z., Emo, B., Vaughn, M., Bao, J., Qin, X., Zhu, Y., Li, J., Lee YL., Dong, G. (2015). Association of polyfluoroalkyl chemical exposure with serum lipids in children. *Science of the Total Environment*.
- ⁷ Nelson, J., Hatch, E., & Webster, T. (2010). Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and cholesterol, body weight, and insulin resistance in the general U.S. population. *Environmental Health Perspectives*.
- ⁸ Fu, Y., Wang, T., Fu, Q., Wang, P., & Lu, Y. (2014). Associations between serum concentrations of perfluoroalkyl acids and serum lipid levels in a Chinese population. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- ⁹ Winquist, A., & Steenland, K. (2014). Modeled PFOA exposure and coronary artery disease, hypertension, and high cholesterol in community and worker cohorts. *Environmental Health Perspectives*.
- ¹⁰ Shankar, A., Xiao, J., & Ducatman, A. (2012). Perfluorooctanoic acid and cardiovascular disease in US adults. *JAMA Internal Medicine*.
- ¹¹ Simpson, C., Winquist, A., Lally, C., & Steenland, K. (2013). Relation between perfluorooctanoic acid exposure and strokes in a large cohort living near a chemical plant. *Environmental Research*.
- ¹² Coperchini, F., Awwad, O., Rotondi, M., Santini, F., Imbriani, M., & Chiovato, L. (2017). Thyroid disruption by perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA). *Journal of Endocrinological Investigation*.
- ¹³ Dewitt, J., Copeland, C., Strynar, M., & Luebke, R. (2008). Perfluorooctanoic acid-induced immunomodulation in adult C57BL/6J or C57BL/6N female mice. *Environmental Health Perspectives*.
- ¹⁴ Fang, X., Zhang, L., Feng, Y., Zhao, Y., & Dai, J. (2008). Immunotoxic effects of perfluorononanoic acid on BALB/c mice. *Toxicological Sciences*.

-
- ¹⁵ Steenland, K., Zhao, L., Winqvist, A., & Parks, C. (2013). Ulcerative colitis and perfluorooctanoic acid (PFOA) in a highly exposed population of community residents and workers in the mid-Ohio valley. *Environmental Health Perspectives*.
- ¹⁶ Steenland, K., Zhao, L., & Winqvist, A. (2015). A cohort incidence study of workers exposed to perfluorooctanoic acid (PFOA). *Occupational and Environmental Medicine*.
- ¹⁷ Grandjean, P., Andersen, E., Budtz-Jørgensen, E., Nielsen, F., Mølbak, K., Weihe, P., & Heilmann, C. (2012). Serum vaccine antibody concentrations in children exposed to perfluorinated compounds. *JAMA*.
- ¹⁸ Grandjean, P., Heilmann, C., Weihe, P., Nielsen, F., Mogensen, U., & Budtz-Jørgensen, E. (2016). Serum Vaccine Antibody Concentrations in Adolescents Exposed to Perfluorinated Compounds. *Environmental Health Perspectives*.
- ¹⁹ Granum, B., Haug, L., Namork, E., Stølevik, S., Thomsen, C., Aaberge, I., van Loveren, H., Løvik, M., Nygaard, U. (2013). Pre-natal exposure to perfluoroalkyl substances may be associated with altered vaccine antibody levels and immune-related health outcomes in early childhood. *Journal of Immunotoxicology*.
- ²⁰ Kielsen, K., Shamim, Z., Ryder, L., Nielsen, F., Grandjean, P., Budtz-Jørgensen, E., & Heilmann, C. (2016). Antibody response to booster vaccination with tetanus and diphtheria in adults exposed to perfluorinated alkylates. *Journal of Immunotoxicology*.
- ²¹ Costa, G., Sartori, S., & Consonni, D. (2009). Thirty years of medical surveillance in perfluorooctanoic acid production workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*.
- ²² Qin, X., Qian, Z., Vaughn, M., Huang, J., Ward, P., Zeng, X., . . . Lee, Y. (2016). Positive associations of serum perfluoroalkyl substances with uric acid and hyperuricemia in children from Taiwan. *Environmental Pollution*.
- ²³ Gleason, J., Post, G., & Fagliano, J. (2015). Associations of perfluorinated chemical serum concentrations and biomarkers of liver function and uric acid in the US population (NHANES), 2007-2010. *Environmental Research*.
- ²⁴ Shankar, A., Xiao, J., & Ducatman, A. (2011). Perfluoroalkyl chemicals and elevated serum uric acid in US adults. *Clinical Epidemiology*.
- ²⁵ Kataria, A., Trachtman, H., Malaga-Dieguez, L., & Trasande, L. (2015). Association between perfluoroalkyl acids and kidney function in a cross-sectional study of adolescents. *Environmental Health*.
- ²⁶ Geiger, S., Xiao, J., & Shankar, A. (2013). Positive association between perfluoroalkyl chemicals and hyperuricemia in children. *American Journal of Epidemiology*.
- ²⁷ Steenland, K., Tinker, S., Shankar, A., & Ducatman, A. (2010). Association of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) with uric acid among adults with elevated community exposure to PFOA. *Environmental Health Perspectives*.
- ²⁸ Gallo, V., Leonardi, G., Genser, B., Lopez-Espinosa, M., Frisbee, S., Karlsson, L., Ducatman, A.M., Fletcher, T. (2012). Serum perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) concentrations and liver function biomarkers in a population with elevated PFOA exposure. *Environmental Health Perspectives*.

-
- ²⁹ Vieira, V., Hoffman, K., Shin, H., Weinberg, J., Webster, T., & Fletcher, T. (2013). Perfluorooctanoic acid exposure and cancer outcomes in a contaminated community: a geographic analysis. *Environmental Health Perspectives*.
- ³⁰ Barry, V., Winquist, A., & Steenland, K. (2013). Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposures and incident cancers among adults living near a chemical plant. *Environmental Health Perspectives*.
- ³¹ Bach, C., Vested, A., J. K., Bonde, J., Henriksen, T., & Toft, G. (2016). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances and measures of human fertility: a systematic review. *Critical Reviews in Toxicology*.
- ³² Stein, C., Savitz, D., & Dougan, M. (2009). Serum levels of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and pregnancy outcome. *American Journal of Epidemiology*, 837-846.
- ³³ Avanasí, R., Shin, H., Vieira, V., & Bartell, S. (2016). Variability and epistemic uncertainty in water ingestion rates and pharmacokinetic parameters, and impact on the association between perfluorooctanoate and preeclampsia in the C8 Health Project population. *Environmental Research*, 299-307.
- ³⁴ Darrow, L., Stein, C.R., Steenland, K. (2013). Serum perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate concentrations in relation to birth outcomes in the Mid-Ohio Valley, 2005-2010. *Environmental Health Perspectives (Online)*.
- ³⁵ Savitz, D., Stein, C., Bartell, S., Elston, B., Gong, J., Shin, H., & Wellenius, G. (2012). Perfluorooctanoic acid exposure and pregnancy outcome in a highly exposed community. *Epidemiology*, 386-392.
- ³⁶ Andersen, C., Fei, C., Gamborg, M., Nohr, E., Sorensen, T., & Olsen, J. (2010). Prenatal exposures to perfluorinated chemicals and anthropometric measures in infancy. *American Journal of Epidemiology*, 1230-1237.
- ³⁷ Washino, N., Saijo, Y., Sasaki, S., Kato, S., Ban, S., Konishi, K., Ito, R., Nakata, A., Iwasaki, Y., Saito, K., Nakazawa, H., Kishi, R. (2009). Correlations between Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals and Reduced Fetal Growth. *Environmental Health Perspectives*.
- ³⁸ Maisonet, M., Terrell, M., McGeehin, M., Christensen, K., Holmes, A., Calafat, A., & Marcus, M. (2012). Maternal Concentrations of Polyfluoroalkyl Compounds during Pregnancy and Fetal and Postnatal Growth in British Girls. *Environmental Health Perspectives*.
- ³⁹ Savitz, D., Stein, C., Elston, B., Wellenius, G., Bartell, S., Shin, H., Vieira, V.M., Fletcher, T. (2012). Relationship of perfluorooctanoic acid exposure to pregnancy outcome based on birth records in the mid-Ohio Valley. *Environmental Health Perspectives*.
- ⁴⁰ Apelberg, B., Witter, F., Herbstman, J., Calafat, A., Halden, R., Needham, L., & Goldman, L. (2007). Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environmental Health Perspectives*.
- ⁴¹ Chen, M., Ha, E., Wen, T., Su, Y., Lien, G., Chen, C.Y., Chen, P.C., Hsieh, W. (2012). Perfluorinated compounds in umbilical cord blood and adverse birth outcomes. *PLoS One*.
- ⁴² Fei, C., McLaughlin, J., Tarone, R., & Olsen, J. (2007). Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environmental Health Perspectives*.

-
- ⁴³ Fei, C., McLaughlin, J., Tarone, R., & Olsen, J. (2008). Fetal growth indicators and perfluorinated chemicals: a study in the Danish National Birth Cohort. *American Journal of Epidemiology*.
- ⁴⁴ Nolan, L., Nolan, J., Shofer, F., Rodway, N., & Emmett, E. (2009). The relationship between birth weight, gestational age and perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated public drinking water. *Reproductive Toxicology*.
- ⁴⁵ Whitworth, K., Haug, L., Baird, D., Becher, G., Hoppin, J., Skjaerven, R., Thomsen, C., Eggesbo, M., Travlos, G., Wilson, R., Cupul-Uicab, I.A., Brantsaeter, A.L., Longnecker, M. (2012). Perfluorinated compounds in relation to birth weight in the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *American Journal of Epidemiology*.
- ⁴⁶ Kwon, E., Shin, J., Kim, B., Shah-Kulkarni, S., Park, H., Kho, Y., Park, E.A., Kim, Y.I., Ha, E. (2016). Prenatal Exposure to Perfluorinated Compounds Affects Birth Weight Through GSTM1 Polymorphism. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 198-205.
- ⁴⁷ Wang, Y., Adgent, M., Su, P., Chen, H., Chen, P., Hsiung, C., & Wang, S. (2016). Prenatal Exposure to Perfluorocarboxylic Acids (PFCAs) and Fetal and Postnatal Growth in the Taiwan Maternal and Infant Cohort Study. *Environmental Health Perspectives*, 1794-1800.
- ⁴⁸ Lauritzen, H., Larose, T., Øien, T., Sandanger, T., Odland, J., van de Bor, M., & Jacobsen, G. (2016). Maternal serum levels of perfluoroalkyl substances and organochlorines and indices of fetal growth: a Scandinavian case-cohort study. *Pediatric Research*, 33-42.
- ⁴⁹ Lee, Y., Kim, M., Bae, J., & Yang, J. (2013). Concentrations of perfluoroalkyl compounds in maternal and umbilical cord sera and birth outcomes in Korea. *Chemosphere*.
- ⁵⁰ Johnson, P., Sutton, P., Atchley, D., Koustas, E., Lam, J., & Sen, S. (2014). The Navigation Guide—evidence-based medicine meets environmental health: systematic review of human evidence for PFOA effects on fetal growth. *Environmental Health Perspectives* , 1028–1039.
- ⁵¹ Koustas, E., Lam, J., Sutton, P., Johnson, P., Atchley, D., Sen, S., Robinson, K.A., Axelrad, D.A., Woodruff, T. (2014). The Navigation Guide—Evidence-Based Medicine Meets Environmental Health: Systematic Review of Nonhuman Evidence for PFOA Effects on Fetal Growth. *Environmental Health Perspectives*.
- ⁵² Zhang, T., Sun, H. L., Qin, Y., Geng, X., & Kannan, L. (2013). Distribution of poly- and perfluoroalkyl substances in matched samples from pregnant women and carbon chain length related maternal transfer. *Environmental Science & Technology*, 7974–7981.
- ⁵³ Kärrman, A., Domingo, J., Llebaria, X., Nadal, M., Bigas, E., van Bavel, B., & Lindström, G. (2010). Biomonitoring perfluorinated compounds in Catalonia, Spain: concentrations and trends in human liver and milk samples. *Environmental Science and Pollution Research*, 750-758.
- ⁵⁴ Al-sheyab, N., Al-Qudah, K., & Tahboub, Y. (2015). Levels of perfluorinated compounds in human breast milk in Jordan: the impact of sociodemographic characteristics. *Environmental Science and Pollution Research*.
- ⁵⁵ Mondal, D., Weldon, R., Armstrong, B., Gibson, L., Lopez-Espinosa, M., Shin, H., & Fletcher, T. (2014). Breastfeeding: a potential excretion route for mothers and implications for infant exposure to perfluoroalkyl acids. *Environmental Health Perspectives*.
- ⁵⁶ Thomsen, C., Haug, L., Stigum, H., Frøshaug, M., Broadwell, S., & G., B. (2010). Changes in concentrations of perfluorinated compounds, polybrominated diphenyl ethers, and polychlorinated biphenyls in Norwegian breast-milk during twelve months of lactation. *Environmental Science & Technology*.

-
- ⁵⁷ Antignac, J., Veyrand, B., Kadar, H., Marchand, P., Oleko, A., Le Bizec, B., & Vandentorren, S. (2013). Occurrence of perfluorinated alkylated substances in breast milk of French women and relation with socio-demographical and clinical parameters: results of the ELFE pilot study. *Chemosphere*.
- ⁵⁸ Fujii, Y., Yan, J., Harada, K., Hitomi, T., Yang, H., Wang, P., & Koizumi, A. (2012). Levels and profiles of long-chain perfluorinated carboxylic acids in human breast milk and infant formulas in East Asia. *Chemosphere*.
- ⁵⁹ Jusko, T., Oktapodas, M., Palkovičová Murinová, L., Babinská, K., Babjaková, J., Verner, M., DeWitt, J.C., Thevenet-Morrison, K., Čonka, K., Drobná, B., Chovancová J., Thurston SW., Lawrence BP., Dozier AM., Järvinen KM., Patayová H., Trnovec T., Legler J., Hertz-Picciotto I., Lamoree, MH. (2016). Demographic, Reproductive, and Dietary Determinants of Perfluorooctane Sulfonic (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA) Concentrations in Human Colostrum. *Environmental Science & Technology*.
- ⁶⁰ Chang, S., Ehresman, D., Bjork, J., Wallace, K., Parker, G., Stump, D., & Butenhoff, J. (2009). Gestational and lactational exposure to potassium perfluorooctanesulfonate (K+PFOS) in rats: toxicokinetics, thyroid hormone status, and related gene expression. *Reproductive Toxicology*, 387-399.
- ⁶¹ Stein, C., Savitz, D., Elston, B., Thorpe, P., & Gilboa, S. (2014). Perfluorooctanoate exposure and major birth defects. *Reproductive Toxicology*.
- ⁶² U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology. EPA response to external peer review comments on EPA PFOA and PFOS support documents.
- ⁶³ U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. Drinking water health advisory for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA Document Number: 822-R-16-005. Maggio 2016.
- ⁶⁴ U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. Health effects support document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). EPA Document Number: 822-R-16-002. Maggio 2016.
- ⁶⁵ U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. Health effects support document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA Document Number: 822-R-16-003. Maggio 2016.