

PROGETTO PATROCINATO DA



PROGETTO PATROCINATO DA



Valutazione dell'Impatto **Ambientale** ed **Alimentare** sulla Funzione Riproduttiva Maschile

COORDINATORE

Dott. Luigi MONTANO UroAndrologo - ASL SALERNO

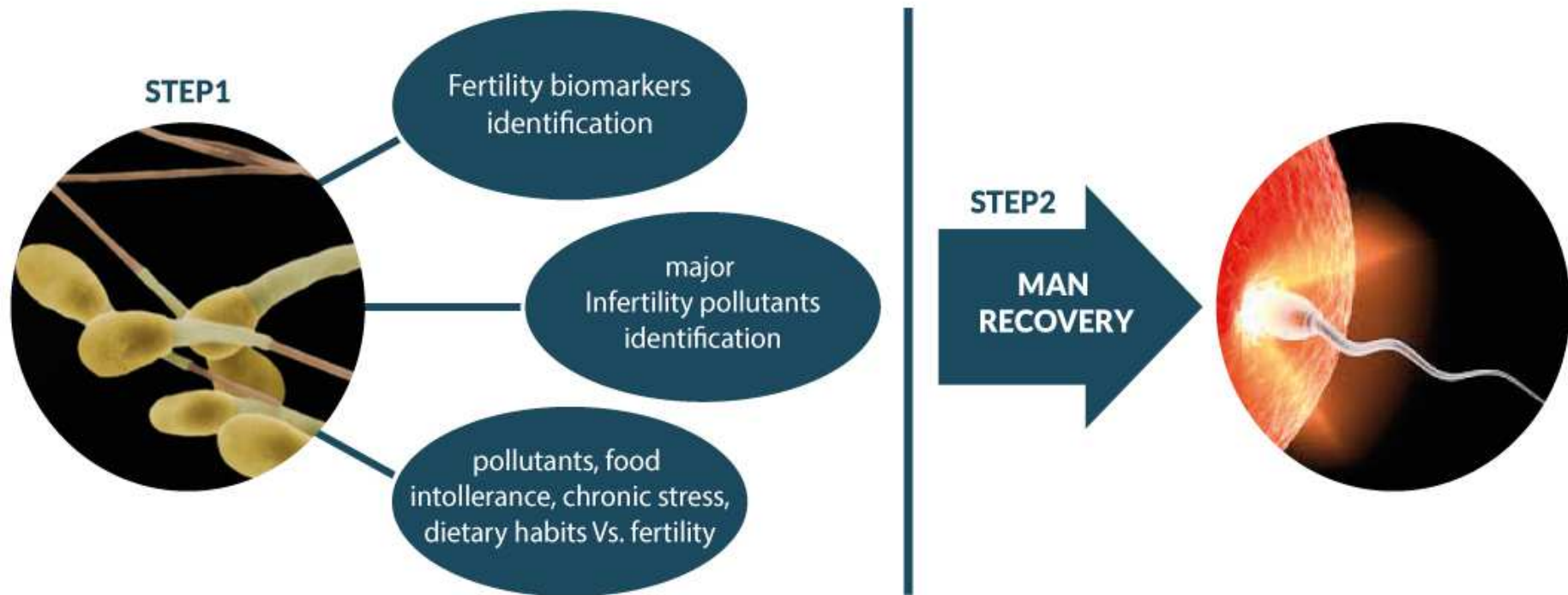
Il Liquido Seminale indicatore della Salute Ambientale.

Per un Nuovo Modello di Ricerca per la Valutazione dell'impatto Ambientale sulla Salute e per la Prevenzione Primaria nelle Aree a rischio

17° Congresso Nazionale AGEO

AMBIENTE E SALUTE DELLA DONNA

Napoli, Palazzo San Teodoro, 21 - 22 Giugno 2017



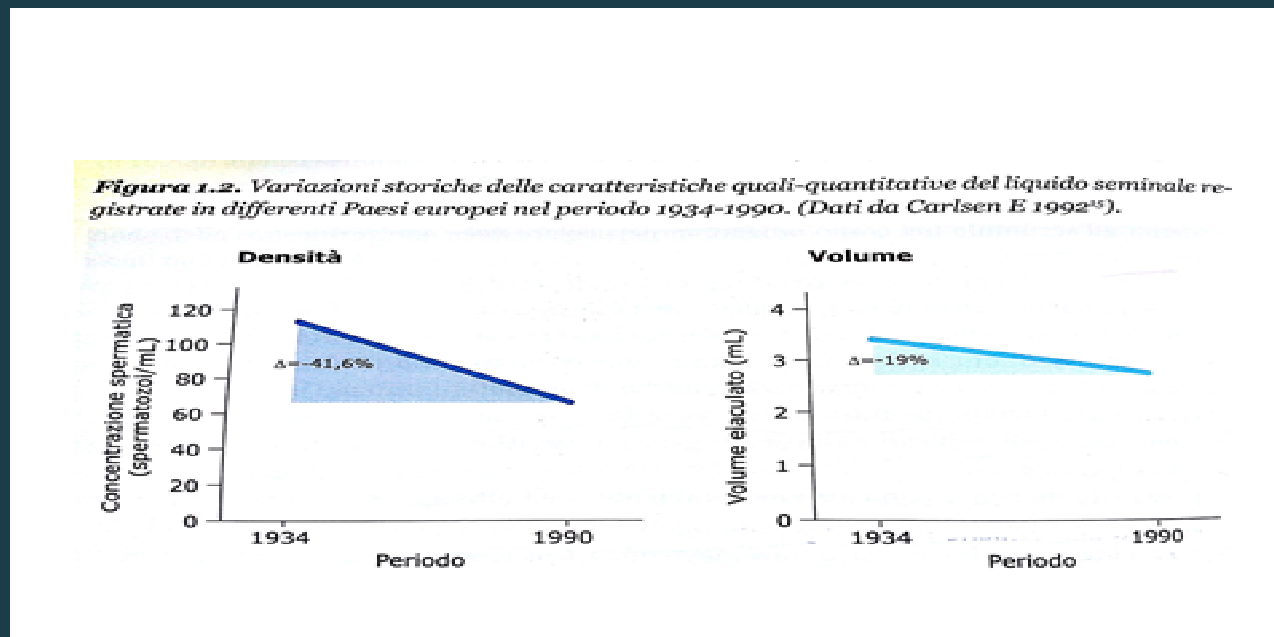
STUDIO MULTICENTRICO ED INTERDISCIPLINARE DI BIOMONITORAGGIO UMANO VOLTO AD OTTENERE UNA MIGLIORE COMPRENSIONE DEGLI EFFETTI COMBINATI DELL' INQUINAMENTO AMBIENTALE, DELLE ABITUDINI ALIMENTARI, DEGLI STILI DI VITA SULLA SALUTE UMANA



Participant No	Participant organization name	Acronym	Country
1 Scientific coordinator	Consiglio Nazionale delle Ricerche: ISA – IFC - ISTM ISTEC – ISPAAM - IMT	CNR	ITALY
2 partner	Università di Napoli – Dip.Sci. della Terra,Ambiente,Risorse	UNINA	ITALY
3 partner	University of Heidelberg (Uro- Andrology Clinic of Heilbronn)	SLK	GERMANY
4 partner	University of Athens - Medical School – Dept. of Ecotoxicology	UOA	GREECE
5 partner	Consorci Sanitari de Terrassa	CST	SPAIN
6 partner	CatLab	CATLAB	SPAIN
7 partner	University of Budapest (National Institute of Andrology)	SE	HUNGARY
8 partner	Veterinary Research Institute – Genetics and reproduction	VRI	CZECH REPUBLIC
9 partner	Institute of Experimental Medicine - Academy of Sciences of the Czech Republic	IEM	CZECH REPUBLIC
10 Partner	ISDE – Intern. Soc. Doctor for	IDEA	IRELAND

Riduzione della qualità e quantità seminale nei paesi industrializzati

1992 (Carlsen et al., 1992)



2003 Joffe M. Infertility and environmental pollutants. Br Med Bull. 2003;68:47–70.

2011 Krausz C. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25:271–85

2013 Sharma R et al. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. Reprod Biol Endocrinol. 2013;11:664.

2014 Le Moal J. Rolland M, Gorla et al..Semen quality trends in French regions are consistent with a global change in environmental exposure. Reproduction, 147(4):567-74

PERCHE' IL PROGETTO

ESIGENZA DI VERITA

Stato di Salute della Popolazione

Verificare indici di Rischio Biologico attraverso la valutazione integrata di biomarcatori di esposizione (stato di bioaccumulo di contaminanti nel sangue e sperma) biomarcatori di effetto e suscettibilità in campioni omogenei di popolazione residenti in aree a differente impatto ambientale

PROTEGGERE LA POPOLAZIONE

In attesa dei tempi lunghi di risanamento territoriale proporre delle strategie innovative di prevenzione primaria (Organi Sentinella) e approcci nutrizionali di compensazione del danno (**Bonifica dell'Uomo**)

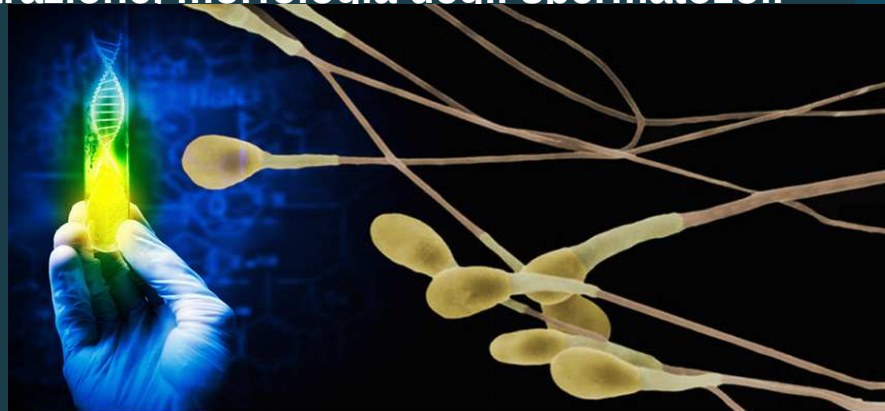
PERCHE' LO SPERMATOO?

Nel liquido seminale contestualmente è possibile misurare i contaminanti ambientali e misurarne gli effetti in vivo sugli spermatozoi. Cellule, facilmente reperibili, con caratteristiche sensibili agli inquinanti ambientali, come la motilità, la morfologia e l'integrità del filamento di DNA. La spermatogenesi a differenza dell'ovogenesi dalla pubertà in poi è a ciclo continuo e quindi più facilmente esposta a insulti nelle sue fasi di continua replicazione. Un «**lettore**» continuo delle informazioni del momento.

bioindicatori elettivi del danno ambientale

Studi di tossicologia, in modelli animali riportano danni sulla linea germinale e sul DNA, quale conseguenza di esposizione a xenobiotici ambientali. Inoltre, studi epidemiologici in soggetti esposti per motivi professionali e negli abitanti di aree contaminate da vicini insediamenti, mostrano

- ❖ Riduzione della motilità, concentrazione, morfologia degli spermatozoi.
- ❖ Danni DNA.
- ❖ Frammentazione cromatina.
- ❖ Aneuploidie spermatiche.
- ❖ Alterazioni dell'epigenoma spermatico



Infertilità, quindi ridotta capacità a concepire spontaneamente, poliabortività ed anche danni genetici ed epigenetici che, se trasmessi, provocano malformazioni congenite, tumori, in particolare in età pediatrica, ma anche nel lungo periodo, influenzando la salute dell'adulto ed addirittura delle generazioni future (Alterazioni transgenerazionali) L' analisi del DNA spermatozoario e delle epimutazioni come strumento di analisi predittiva

HEALTH MARKER

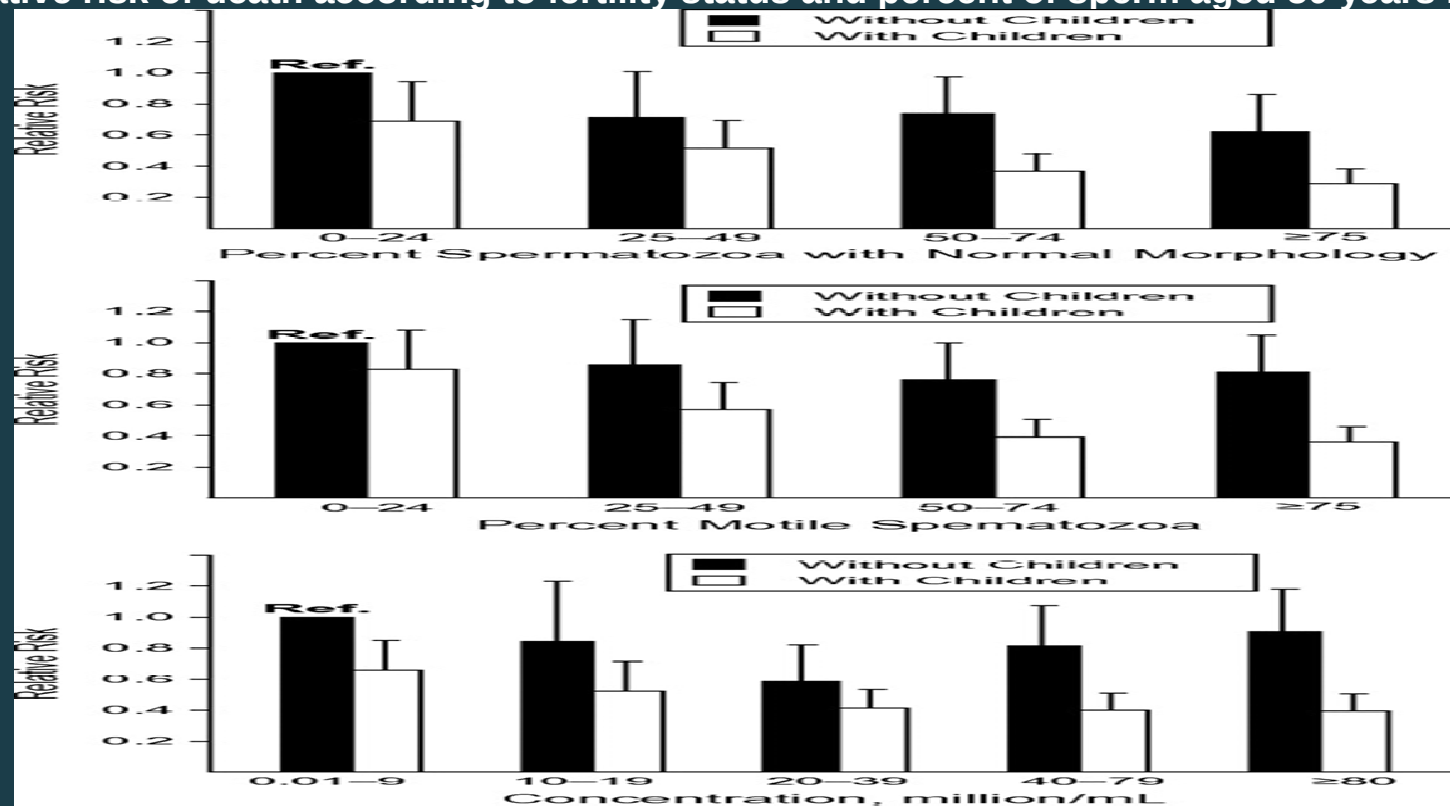
2009 Jensen TK et al. Good semen quality and life expectancy: a cohort study of 43,277 men. *Am J Epidemiol* ;170: 559–565

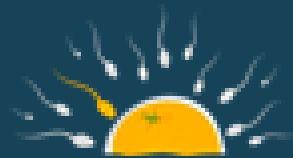
2014 Eisenberg ML et al. Semen quality, infertility and mortality in the USA. *Hum Reprod.*, 29:1567-74

2015 Eisenberg ML Relationship between semen production and medical comorbidity. *Fertil Steril.* 103:66-71.

2017 Hanson HA et al. Risk of childhood mortality in family members of men with poor semen quality. *Hum. Reprod.* 32(1):239-247. Epub 2016 Dec 6.

Relative risk of death according to fertility status and percent of sperm aged 50 years in 1980.





EcoFoodFertility
ambiente, alimentazione, fertilità

PERCHE' LO SPERMATOZOO? **CHIAVE DI LETTURA DEL RAPPORTO AMBIENTE-SALUTE**



APPARATO RIPRODUTTIVO MASCHILE **ORGANO SENTINELLA** **LA DUPLICE FUNZIONE DEL SEME MASCHILE**

SENTINELLA AMBIENTALE : SENSORE DELLA QUALITA' AMBIENTALE

SENTINELLA DELLA SALUTE : BIOINDICATORE DELLA SALUTE UMANA

- Seme Marker affidabile di esposizione Ambientale (Sentinella/sensore ambientale)
- Seme precoce indicatore di Salute (Sentinella/Sensore della Salute)
- Apparato riproduttivo maschile: Organo Sentinella per nuovi programmi di **Prevenzione PRIMARIA** al primo livello di esposizione (Finestra Espositiva: Età Adolescenziale oltre quella embrio-fetale e infanzia) per ridurre le patologie cronico-degenerative e in base alle nuove evidenze anche per **Prevenzione ANTE-PRIMARIA (PRECONCEPIMENTO)**: per ridurre l'impatto delle alterazioni epigeneticamente trasmissibili al nascituro e alle generazioni successive)
- Lo Stile di Vita, in particolare, l'ALIMENTAZIONE MODULA (mitiga o amplifica) il bioaccumulo dei contaminanti e dunque l'effetto dell'inquinamento sulla salute umana
- **BONIFICA DELL'UOMO**: Regimi alimentari più idonei a ridurre il bioaccumulo dei contaminanti ad aumentare le difese citoprotettive, ad amplificare i processi di detossificazione e ad espletare azione antiossidante per ridurre e/o compensare gli effetti dell'inquinamento

OBIETTIVI

- 1) **IDENIFICARE PRINCIPALI BIOMARCATORI DI ESPOSIZIONE, DI EFFETTO CHE INCIDONO SULLA SALUTE UMANA NEI DIVERSI FLUDI BIOLOGICI, CON PARTICOLARE ATTENZIONE AL SEME UMANO CHIAVE DI LETTURA DEL RAPPORTO AMBIENTE-SALUTE**
- 2) **PROPORRE NUOVI MODELLI DI PREVENZIONE PRIMARIA CHE PARTENDO DA ORGANI SENTINELLA COME L'APPARATO RIPRODUTTIVO MASCHILE, CONSENTANO DI AVERE INFORMAZIONI PRECOCI SULLO STATO DI SALUTE GENERALE, CONSIDERANDO LA FERTILITA' NON SOLO COME INDICATORE DI SALUTE RIPRODUTTIVA, MA PRESIDIO DI PREVENZIONE PER LE PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE NELL'ADULTO E CON LE MODIFICAZIONI DELL'EPIGENOMA SPERMATICO PER LE GENERAZIONI FUTURE**
- 3) **CHIARIRE COME GLI STILI DI VITA INDIVIDUALI ED IN PARTICOLARE L'ALIMENTAZIONE MODULA IL BIOACCUMULO DEI CONTAMINANTI E PIU' IN GENERALE GLI EFFETTI DELL'INQUINAMENTO SULLA SALUTE UMANA**
- 4) **IDENTIFICARE APPROCCI NUTRIZIONALI CAPACI DI RIDURRE NEL TEMPO GLI INDICI DI CONTAMINAZIONE AMBIENTALE E I BIOMARCATORI DI EFETTO (Bonifica naturale dell'uomo)**
- 5) **COSTRUIRE UNA MAPPA DEL RISCHIO AMBIENTALE E SANITARIA ATTRAVERSO L'INTEGRAZIONE DEI DATI AMBIENTALI E SANITARI PER INDIRIZZARE POLITICHE DI RISANAMENTO AMBIENTALE E DI PREVENZIONE PRIMARIA A SALVAGUARDIA DELLA SALUTE PUBBLICA**

Prevenzione Preconcepimento

Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clinical Epigenetics* . November 2015

Stuppia , Franzago, Ballerini, Gatta, Antonucci

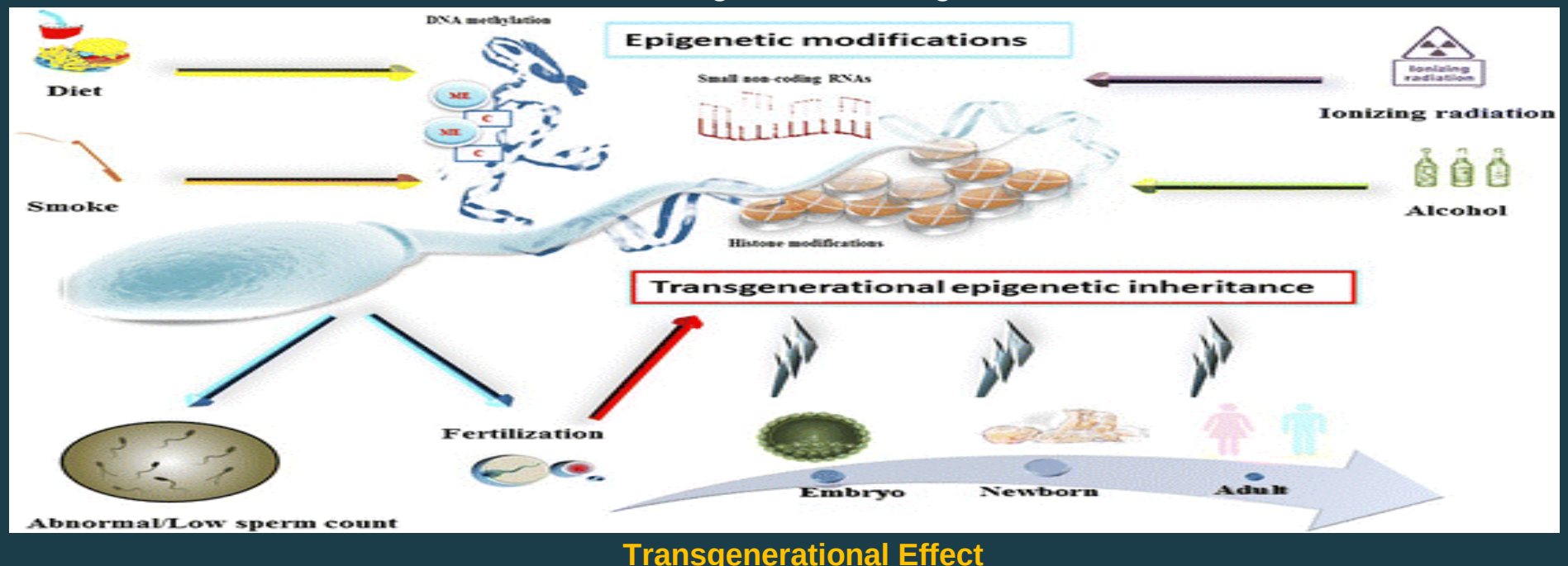
Environmental pollutants: genetic damage and epigenetic changes in male germ cells

Environmental Science Pollution., September 2016 (23:23339–23348)

Vecoli, Montano, Andreassi

Fertility treatments and pediatric neoplasm of the offspring: results of a population-based cohort with a median follow-up of 10 years. *Obstetrics and Gynaecology* , January 2017

Wainstock, Walfisch, Vardi, segal, Harlev, Sergienko, Landau, Sheiner





1200 soggetti da 6 paesi europei (200/Stato) CRITERI DI SELEZIONE



- 18-40 anni
- residenti da almeno 10 anni
- non fumatori
- non bevitori abituali
- non consumatori di droghe
- esenti da patologie andrologiche
- non professionalmente esposti



SPAGNA GERMANIA UNGHERIA ITALIA REP. CECA GRECIA

Reclutamento soggetti

Visita medica

Prelievo

Questionario alimentare

SPERMA

Feci: Microbioma

SANGUE

Spermiogramma + Spermiocoltura
Integrità DNA (p53 by ELISA and SCD)
Studio aneuploidie spermatiche,
Valutazioni epigenetiche
Metalli pesanti, IPA, diossine, PCB,
Nanoparticolato ,
Bisfenoli , Ftalati, Parabeni, Pesticidi
Valutazione stato redox, enzimi antiox,
metabolomica e lipidomica seminale

Es. Routine + dosaggio ormonale
Analisi Citogenetica lifocitaria e aneuploidie
Analisi genetiche con studio Polimorfismi dei geni
coinvolti nei meccanismi di detossificazione
metabolica e di riparazione del DNA per la
definizione della suscettibilità individuale
Analisi epigenetiche - Metalli pesanti, IPA,
Diossine PCB, Nanoparticolato, Bisfenoli, Ftalati,
Parabeni, Pesticidi
Valutazione stato redox, enzimi antiox

Fase 2 del progetto: Approccio Nutrizionale

Studio clinico randomizzato (RTC) su un sottogruppo di soggetti per valutare l'effetto della dieta sui biomarcatori di esposizione ed effetto in particolare sull'Indicatore di Salute più precoce: SEME MASCHILE

Dieta vegetale BIO

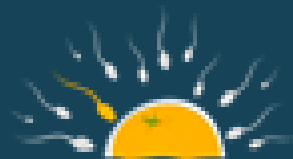
Dieta vegetale

Dieta abituale

OBIETTIVO

**Ridurre il bio-accumulo di sostanze tossiche,
aumentare i meccanismi di cito-protezione e detossificazione,
migliorare gli indici dei biomarcatori ossidativi, immunologici,
epigenetici, lipidomici, metabolomici**

Fare prevenzione per patologie cronico-degenerative



EcoFoodFertility
ambiente, alimentazione, fertilità

Come salvaguardare la Salute Riproduttiva e prevenire le malattie cronico-degenerative?

Farmaci

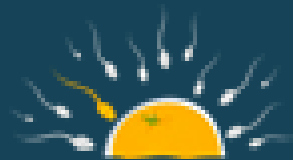


**Medicina di
attesa**

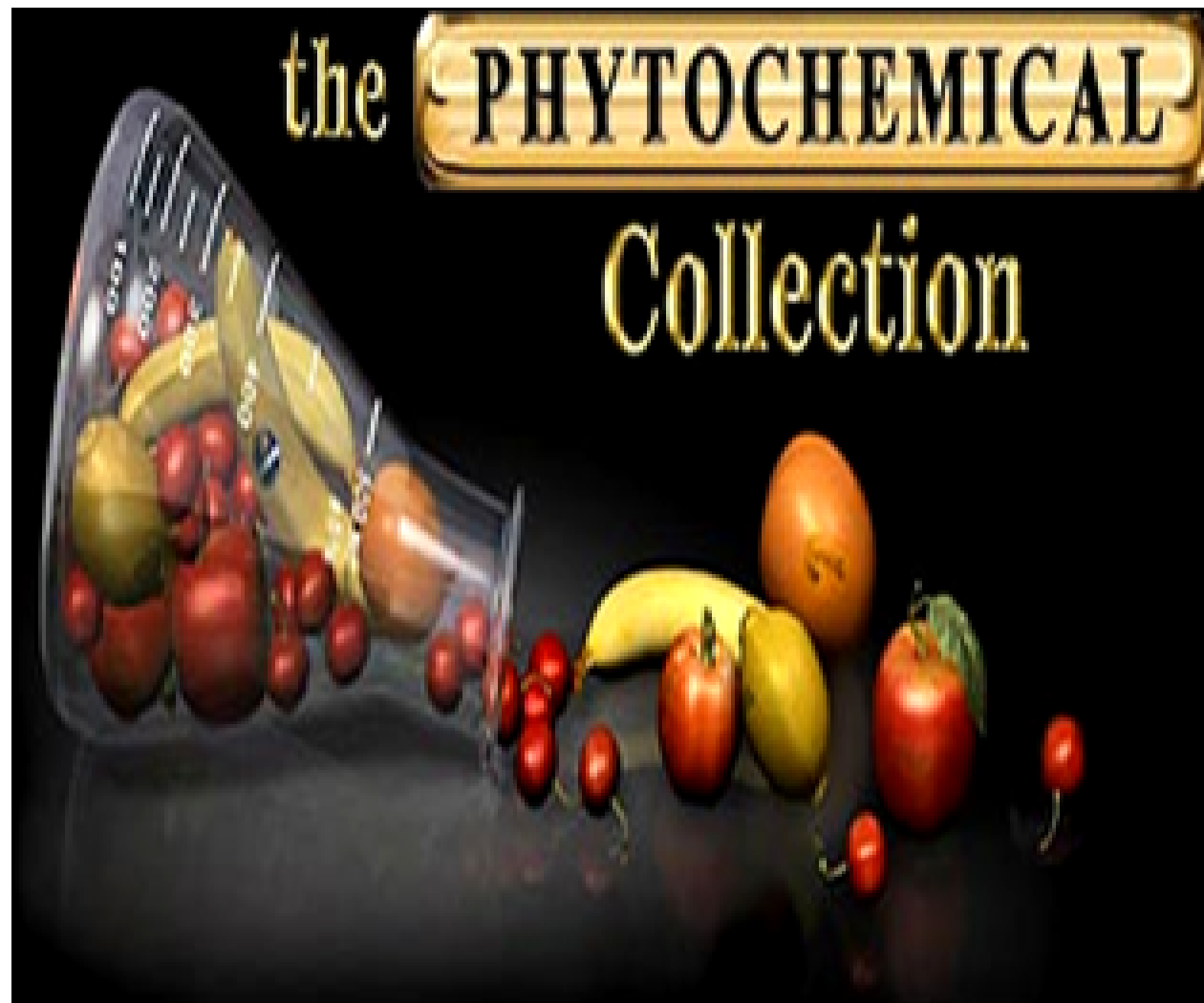
ALIMENTO Farmaco



**Medicina di
iniziativa**



Fitochimici in natura



Polifenoli
Carotenoidi
Cumarine
Fitati
Flavonoidi
Ftalidi
Glucarati
Indoli
Isotiocianati
Lignani
Monoterpeni
Poliacetileni
Composti sulfurei
Triterpeni

Alcuni vegetali biologici possono contenere fino al 60% in più di antiossidanti rispetto a vegetali coltivati con agricoltura convenzionale

Spinaci: oltre che ricchi di vit. A, k, e, b2 e b6 hanno capacità antiossidanti per la presenza di carotenoidi e polifenoli

Cavoli: sulforafano, potente antiossidante e aiuta a detossificare dal Benzene eliminato poi con le urine

Carote: vit. A inibisce il benzo(a)pirene

Barbabietola rossa: radioprotettiva attraverso attività antiossidante e modulante della betalaina

Zucca gialla: semi ricchi di antiossidanti e antitumorale, immunomodulante

Alghe: assorbono Nikel, rame, cromo esavalente e anche elementi radioattivi come radio, stronzio, cobalto

Coriandolo: neutralizza come chelante mercurio, cadmio, piombo, alluminio anche intracellulare

Alga clorella. Elimina metalli pesanti

Aglio, ossida mercurio, cadmio, piombo, che con zolfo li rende solubili in acqua e li elimina

Carciofo: fenoli, <cidi cinarici proteggono da amianto

Curcuma in dosi regolari ripulisce fegato e antitumorale

ENVIRONMENTAL AND FOOD IMPACT ON MALE REPRODUCTIVE FUNCTION

INTRODUCTION

Over the past 60 years, several studies show a reduction of sperm concentration in men of many industrialized countries. Demographic surveys show that since the early 50's there was a steady reduction in birth rates in all European countries [1, 2] and, although environmental factors (pollution, stress, dietary lifestyle) may have a role in the reduction of qualitative and quantitative semen parameters, nevertheless, the causal effect of environmental factors on male fertility is still obscure.

The association between impaired sperm function with oxidative stress conditions [3] and the susceptibility of human semen quality to environmental physical (Particulate Matter) and chemical (PCB, dioxins, etc) pollutants [4] has been recognized but the possible link between the bioaccumulation of environmental pollutant and male fertility parameters remains to be demonstrated.

Biological fluids (human semen, blood serum) and blood lymphocytes are useful tools for the evaluation of pollutant bio-accumulation from environment and food intake. In particular, the semen analysis is of same sample both the bio-accumulation of environmental pollutants

CONCEPT AND APPROACH



(plasma) and the effects of key biological parameters (e.g. sperm number, motility, morphology and DNA integrity). Moreover, as human semen is a source of easily available high number of cells, the particular susceptibility of spermatozoa to environmental pollutants makes these cells elective bio-indicators for evaluating the causal effects of environmental pollution on human health (reproductive function[5]).

The project "EcoFoodFertility" aims at investigating the relation between the bioaccumulation of chemical contaminants in blood and semen with sperm disorders and food intolerances in a cohort of men of different European countries. In this observational cross-sectional multicenter study, 1200 healthy men (age 20-40 years), living in specific areas defined at high and low indices of environmental pressure, will be recruited from six European countries (Italy, Spain, Greece, Czech Republic, Germany, Hungary, Ireland), and selected for low exposure to occupational hazard, non-smoking, non-drinking,



non-drug users.

Selected area description: The following polluted (urban) areas have been selected in the six participating countries, in accordance with the monitoring of the local Environmental Agencies:

In Italy, a specific zone located to the Northern and Southern parts of Naples and Caserta provinces, respectively (s.c. "Land of Fires"). In Spain (Cataluña), Barcelona and surrounding areas. In Czech Republic (CR) has been selected the Moravian-Silesian Region (MSR) in the region with the highest concentrations of benz[a]pyrene (B[a]P) in Europe [6]. In Greece, Athens and surrounding areas.

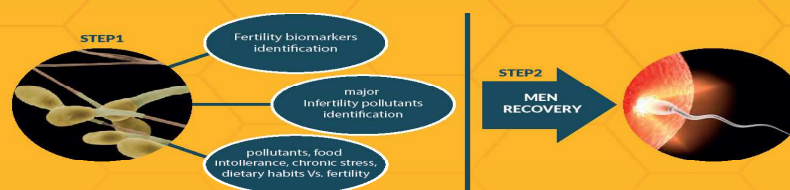
Hungary, the surrounding area of Budapest, Germany the area of Heilbronn a city with a strong industrial density (Baden-Württemberg), Ireland with International Society of Doctors

References

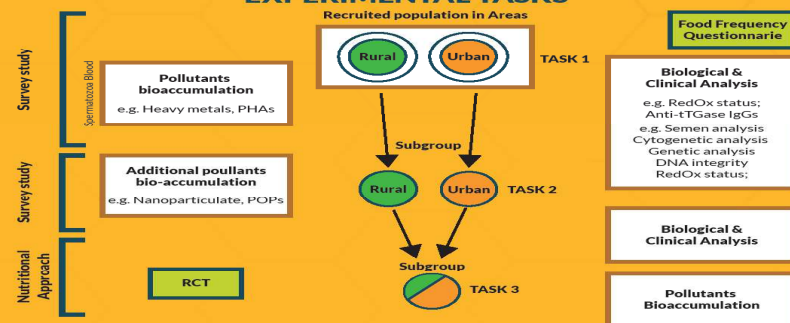
1. Carlsen et al., 1992, BMJ 305, 609.
2. Rolland et al., 2013, Hum. Repr. 28, 462.
3. Tremellen K., 2012, Applied Basic Research and Clinical Practice.
4. Jurewicz et al., 2003, Int J Occup Med Environ Health, 26, 790.
5. Nordkap et al., 2012, Mol Cell Endocrinol, 355, 221-30.
6. Roesser et al., 2013, Mutagenesis 28, 89.
7. Chohan et al., J Androl, Vol. 27, 2006.
8. Nelson WG, Kestian MB, 1994, Mol Cell Biol 14, 1815.
9. Raimondo S, et al; Quantitative evaluation of p53 as a new indicator of DNA damage in human spermatozoa. J Hum Repr Sci. In Press.

OBJECTIVES

ECOFODFERTILITY target is to achieve a better understanding of the combined effects of environmental pollution, dietary habits, and fertility in men (step 1), establishing an ultimate link between health and environment and – where such link would be demonstrated – identify dietary approaches and/or detoxifying therapy in order to get the men recovery (step 2).



EXPERIMENTAL TASKS



EXPECTED RESULTS

- 1) identification of physical-chemical compounds in blood and spermatic fluid from six European countries and relationship between environmental pollution and male fertility
- 2) Novel biomarkers in semen of exposed people selected oxidative stress and DNA damage markers of human spermatozoa as reliable indicators of toxic bio-accumulation for prevention and diagnosis
- 3) Validation of genetic biomarkers (SNPs) to identify a subset of individuals more vulnerable to environmental exposure and who might represent the target of preventive measurements (by pharmacologic or dietary protection)
- 4) Quantitative/qualitative influence of pollutant bio-accumulation on male fertility and food intolerances/allergies;
- 5) Role of dietary habits on the sensitivity to environmental-induced male fertility is tested
- 6) Nutritional intervention study to improve male fertility parameters in highly polluted areas



A NEW REPETITIVE AND EASY METHOD TO QUANTIFY DNA DAMAGE AS WELL AS TO ASSESS SPERM QUALITY

MATERIALS AND METHODS

The selection criteria for subjects are: at least 1200 healthy, non-smoking, non-drinkers men (300 per country), aged between 20-40 years and resident for at least 10 years in rural or urban area (defined according to PM10 levels monitoring). They will be recruited within the first 12 months of the study.

Task 1

- A) Uro-andrological visit.
- B) Administration of Food Frequency Questionnaire (FFQ)
- C) Biological Assays on blood

- Routine blood tests: hormonal profile (LH, FSH, DHT, E2, HPRL, Free and Total Testosterone, Cortisol)
- Intolerance/allergy assessment: serum anti-tissue-transglutaminase (tTGase) anti-gliadin (AGA) antibodies, IgE toward the major food allergens by ELISA
- Evaluation of oxidatively modified(carbonylated) proteins

- Cytogenetic analysis: lymphocyte cultures will be analysed for karyotype construction (to reveal the presence of balanced chromosome abnormalities which can affect the fertility) and mutational cytogenetic test on chromosomes and micronuclei.

Molecular analysis. Telomere length analysis will be performed by Real-Time PCR technique. DNA will be collected from leucocytes and genotyping will be done with a high-throughput platform "Genomelab GeXP Genetic Analysis System" which allows the simultaneous analysis of 192 samples to explore the joint effects of genetic variants in detoxification and DNA repair genes (i.e. GSTM1, GSTT1, XRCC1, XRCC3, hOGG1) and exposure in modulating individual susceptibility to reproductive dysfunction.

D) Biological Assay on semen.

- Spermogram according to the WHO Manual 2010 with biochemical markers (Fructose, and citric acid content)
- Spermic culture for common germs, genital mycoplasmas and Chlamydia trachomatis

- Assessment of DNA Sperm damage through the Sperm Chromatin Dispersion test [7,8] and by a NEW repetitive and easy method to quantify DNA damage to assess sperm quality, measuring P53 levels by ELISA[9]

- Activity and mRNA level measurement of several enzymes (i.e. glutathione transferase, GST; NAD(P): quinone oxidoreductase, NQO1; Glutathione reductase, GR)

E) Chemical-Physical analysis on blood and semen

Heavy metal content will be analysed by an inductively coupled plasma mass spectrometry, using ICP-OS (Termoscientific, Milan, Italy) with Asx 520 autosampler. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) compounds by high performance liquid chromatography combined with fluorescence detection (HPLC/FLD), (detection limit is 0.05 µg/L) and gas chromatography with mass spectrometry (GC/MS) (detection limit 0.1 µg/L)

Task 2

further investigations only on selected subjects.

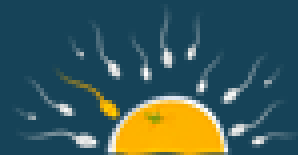
Only on blood serum/semen of selected subjects (n=300 from both urban and rural regions of the four countries)

- 1) Particulate Matter (PM) content (chemical composition, size, morphology and other physical-chemical features of the identified particles) by means of Scanning and Transmission Electron Microscopy, Energy Dispersion X-ray Spectroscopy, Dynamic Light Scattering and, when needed, by other techniques such as: X-ray Electron Diffraction, Thermogravimetric Analysis, Attenuated Total Reflectance Infrared Spectroscopy.

- 2) POPs content (polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers, chlorobenzenes, Bisphenol A diglycidyl, bisphenols, alkylphenols, benzophenones, Benzotriazoles, benzothiazoles, parabens, perfluoroalkyl carboxylate acids, perfluoroalkyl sulfonates, perfluoroalkyl sulfonamides and dioxins) by means of High Resolution Gas chromatography and High Resolution Mass spectrometry.

Task 3

"Man recovery" A Randomized Clinical Trial (RCT) to evaluate the effects of diet. Eight week intervention with either a diet based on healthy diet guidelines or a diet based on healthy diet guidelines plus functional food supplement and control diet on quality/quantitate of semen abnormalities in a subgroup of individuals. The RCT will be based on a three-arm parallel group design and will consist of a 4 week run-in period, during which participants will stabilize on their own diet, and three 8 week test periods. At the end of the run-in period, the participants will be randomly assigned to one of three groups: the first group will consume a diet based on current healthy diet guidelines (healthy diet group), the second one will consume a diet based on current healthy diet guidelines plus functional foods (functional foods group) and the last one will consume habitual diet (control group). At the beginning and the end of the intervention semen and blood samples will be taken to measure those biological and chemical parameters that better allowed quantifying semen quality.



EcoFoodFertility
ambiente, alimentazione, fertilità

Premio Migliore Comunicazione Scientifica con la seguente motivazione:

«Ricerca innovativa e rispondente ai bisogni del territorio che apre nuovi scenari alla conoscenza del rapporto Ambiente-Salute-»



**L'EXPO DELL'UOMO:
L'ANDROLOGIA TRA MEDICINA E CULTURE**
XXXI CONGRESSO NAZIONALE
SOCIETÀ ITALIANA DI ANDROLOGIA

NAPOLI
5 - 8 giugno 2015
HOTEL ROYAL CONTINENTAL

Presidente SIA
Giorgio Franco

Presidente del Congresso
Vincenzo Mirone

Coordinatore
Alessandro Palmieri



EcoFoodFertility
ambiente, alimentazione, fertilità

Fund raising Associazione Scientifica di Scopo EcoFoodFertility

Terra dei Fuochi

Alto Medio Sele

100

100

Visita medica

Prelievo

Questionario alimentare

SPERMA

SANGUE

Numero, motilità, morfologia (WHO)

Integrità DNA (p53 by ELISA)

Metalli pesanti

Valutazione Stato REDOX

LH, FSH, DHT, E2, HPRL, Testosterone

Analisi citogenetica lifocitaria

Metalli pesanti

Valutazione Stato REDOX



Human semen as an early, sensitive biomarker of highly polluted living environment in healthy men: A pilot biomonitoring study on trace elements in blood and semen and their relationship with sperm quality and RedOx status. *Reproductive Toxicology* 66 (2016) 1–9

Paolo Bergamo^a, Maria Grazia Volpe^a, Stefano Lorenzetti^b, Alberto Mantovani^b, Tiziana Notari^c, Ennio Coccia^d, Stefano Cerullo^a, Michele Di Stasio^a, Pellegrino Cerino^e, **Luigi Montano f**,

^aInstitute of Food Sciences, National Research Council (CNR-ISA), via Roma 64, 83100 Avellino, Italy; ^bIstituto Superiore di Sanità (ISS), Dept. of Food Safety and Veterinary Public Health, viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy; ^cInfertility Center of the “San Luca” Hospital, Local Health Authority (ASL) Salerno, via Francesco Cammarota, Vallo della Lucania (SA), Italy; ^dInstitute of Biosciences and Bioresources, National Research Council (CNR-IBBR), Via Pietro Castellino 111, 80131 Naples, Italy; ^eIstituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno (IZSM), via della Salute 2, 80055 Portici (NA), Italy; ^fAndrology Unit of the “San Francesco d’Assisi” Hospital, Local Health Authority (ASL) Salerno, **EcoFoodFertility Project Coordination Unit, via M. Clemente, 84020 Oliveto Citra (SA), Italy**

!

CAMPIONE

110 maschi sani, (non fumatori, non bevitori abituali, non esposti professionalmente)

n = 60 residenti in comuni tra Napoli e Caserta

(ALTO impatto ambientale; **TdF**),

Età media 28 ± 5 ,

BMI 24.5 ± 2.4

n = 50 residenti Prov. di Salerno (BASSO

impatto ambientale; **SaS**)

Età media 28 ± 7

BMI 24.5 ± 2.4

ANALISI

1 - Spermiogramma,

2 - Elementi in traccia nel seme e nel sangue

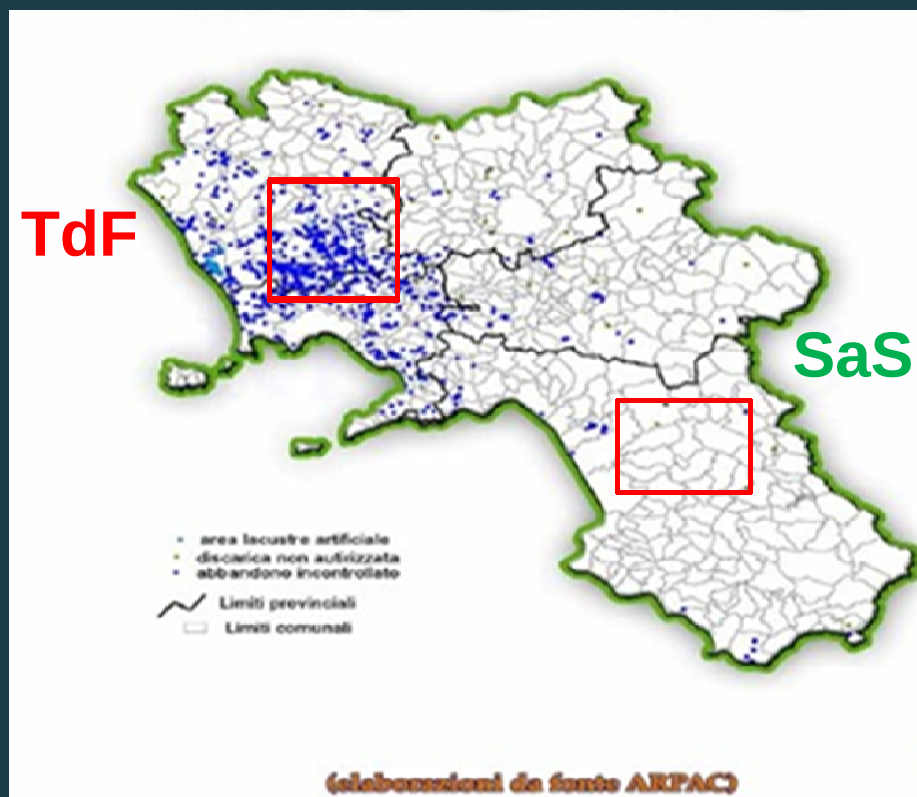
(Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Zn)

3 - Capacità antiossidante totale nel seme e nel sangue (CAT)

In un sottoinsieme casuale (n=20 soggetti/gruppo) :

4 - Indice di frammentazione del DNA spermatico (DFI)

5 - Attività di enzimi antiossidanti nel seme (Glutathione Riduttasi, GSR; Glutathione Perossidasi, GPx).



Differenze statisticamente significative ($p < 0.05$)

Il gruppo **TdF** mostrava rispetto al gruppo **SaS** più alti livelli **EMATICI** di: e più elevate concentrazioni nel **liquido seminale** di:

Al + 63%

Mn +59%

Cr +51%

Mg +41%

Li +36%

Co +33%

Ca +26%

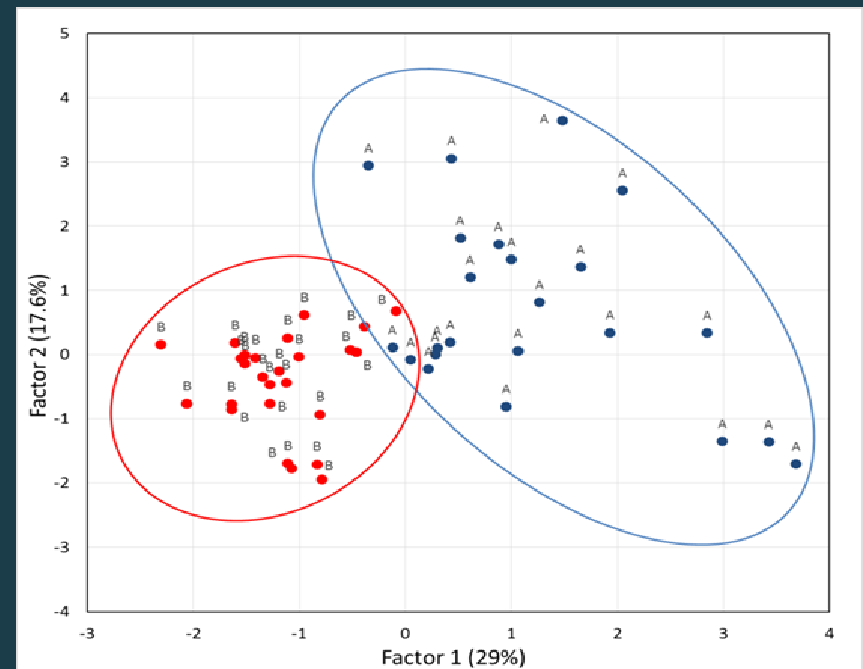
Cr + 95%

Cu + 45%

Zn + 8%

Fe - 87%

L'analisi in componenti principali o PCA, principal component analysis, tecnica per la semplificazione dei dati utilizzata nell'ambito della statistica multivariata, mostra che è possibile separare individui localizzati in zone a basso ed alto impatto in due gruppi distinti, per cui la provenienza geografica pesa in maniera predominante. Dal grafico degli score, infatti, si evince che le Componenti individuate con il 29,00% il 17,60% della varianza ripartiscono i campioni in due gruppi separati. Il gruppo evidenziato in blu corrisponde ai donatori della **TdF**, mentre quello evidenziato in rosso contiene i donatori della zona a **SaS**.



	SaS	TdF	p value
	(n= 50)	(n= 60)	
Semen quality parameters			
pH	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.2	N.S.
Volume (mL)	2.9 ± 0.9	3.0 ± 1.3	N.S.
Cell concentration (10 ⁶ /mL)	42.8 ± 18	44.2 ± 26	N.S.
Total sperm number (10 ⁶) (10 ⁶ /ejaculate)	132.1 ± 87	140 ± 89	N.S.
Progressive motility (%)	35.0 ± 13.4	32.3 ± 12.7	N.S.
Morphology (%)	6.4 ± 2.4	6.0 ± 2.3	N.S.
Total motility (%)	55.2 ± 19.3	48.5 ± 16.8	0.028
Round cells conc. (10 ⁶ /mL)	2.5 ± 2.1	2.6 ± 1.8	N.S.
Blood RedOx status			
TAC (mM)	3.5 ± 1.0	3.1 ± 1.2	N.S.
SH (mmoles/ mg prot)	58.7 ± 7	62.3 ± 11	N.S.
Vitamin A (μmol/L) (mmoles/L)	2.6 ± 0.7	2.4 ± 0.7	N.S.
Vitamin E (μmol/L) μmol/L	32.1 ± 1.0	30.7 ± 8.8	N.S.
Seminal plasma RedOx status			
TAC (mM)	1.2 ± 0.4	0.9 ± 0.3	<0.005
SH (mmoles/mg)	212.5 ± 66	207.3 ± 60	N.S.
GSH (nmoles/mg/min)	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.0	<0.01
GSSG (nmoles/mg/min)	0.2 ± 0.3	0.1 ± 0.5	N.S.

		TdF	SaS
GSR p <0.05	(nmoli NAPH/mg/min)	26.2 ± 8.4	37.0 ± 5.2 *
GPx P <0.05		202.5 ± 55	269.4 ± 55 *
DFI p <0.05	(%)	27.7 ± 13.3	13.8 ± 7.1 *

		TdF	SaS
Motilità Tot spermatozoi p < 0.05	%	48.5 ± 17	55.2 ± 19 *
TAC (siero ematico)	(mM)	3.1 ± 1.0	3.5 ± 1.2
TAC (plasma seminale) p < 0.05	(mM)	0.9 ± 0.4	1.2 ± 0.3 *

2° WORLD CONGRESS OF PUBLIC HEALTH AND NUTRITION

22-24 March 2017, Rome, Italy

11TH INTERNATIONAL CONGRESS OF ANDROLOGY

6 - 9 May 2017, Copenhagen, Denmark

1- The role of human semen as an early and reliable tool of environmental impact assessment on human health in risk areas. (EcoFoodFertility Project)

2- The role of the Mediterranean diet on sperm morphology in healthy men living in polluted area (EcoFoodFertility Project)

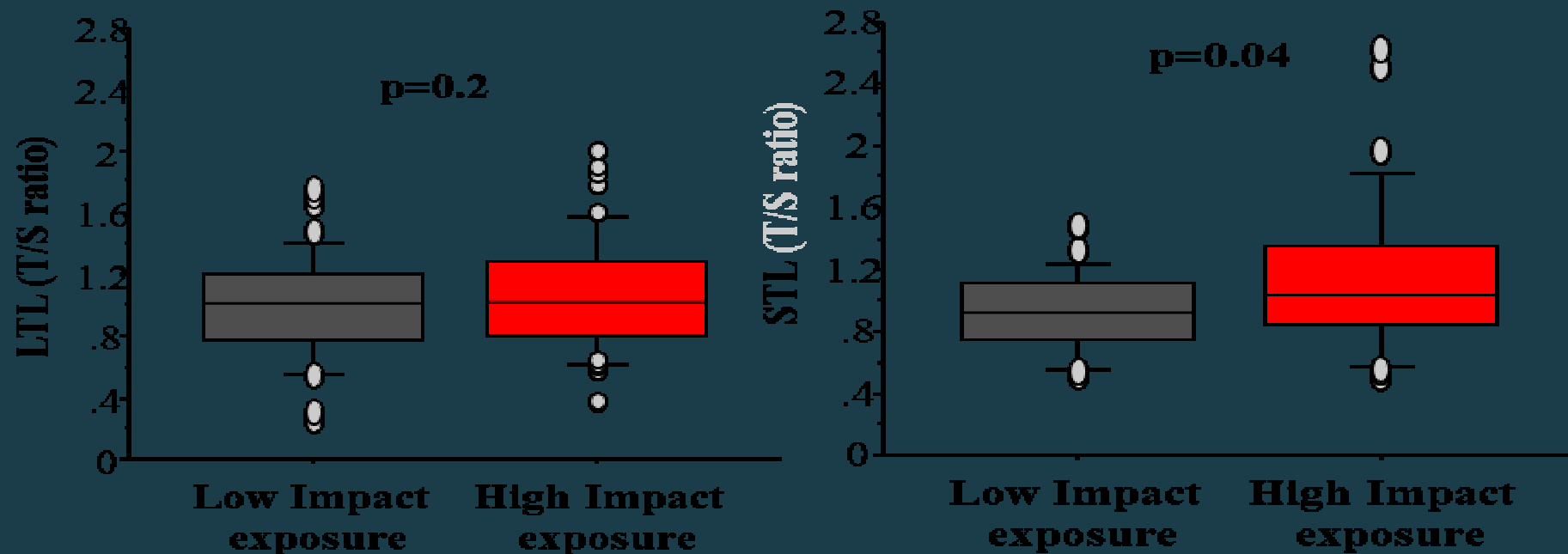
Effects of highly polluted environment on sperm telomere length: a pilot study (submitted)

Vecoli, Montano, Andreassi
(CNR Pisa- Asl Salerno)

112 maschi sani non fumatori e non bevitori abituali, normospermici (età media = 29.0 + - 5.6)

Alta Pressione Ambientale (Terra dei Fuochi) (n=57)

Bassa Pressione Ambientale (Alto Medio Sele) (n=55)



Seme ideale Biomarker di esposizione ambientale

La ridotta motilità spermatica, lo stato redOx del seme, l'indice di frammentazione del DNA, la lunghezza dei telomeri, sono utili e precoci indicatori di esposizione ambientale.

List of participants

Il nostro suggerimento: SEME, più del SANGUE, appare un marker precoce e sensibile di esposizione ambientale e quindi può essere considerato dai policy makers molto utile, sia per il monitoraggio delle popolazioni esposte a contaminanti ambientali, sia per avviare innovativi programmi di sorveglianza e prevenzione primaria nella aree a rischio.

**The role of the Mediterranean diet on sperm morphology in healthy men living
in polluted area (EcoFoodFertility Project).**

Montano Luigi¹, Porciello Giuseppe², Anna Crispo², Lorenzetti Stefano³, Raimondo Salvatore⁴, Ubaldi Stefania⁵, Caputo, Michela⁶

**ASL Salerno, Istituto Superiore di Sanità, Istituto Nazionale dei
Tumori di Napoli, European LifeStyle Medicine Organization (Ginevra)**

CAMPIONE ANALIZZATO

94 maschi sani

**Non fumatori, non bevitori abituali, non
professionalmente esposti**

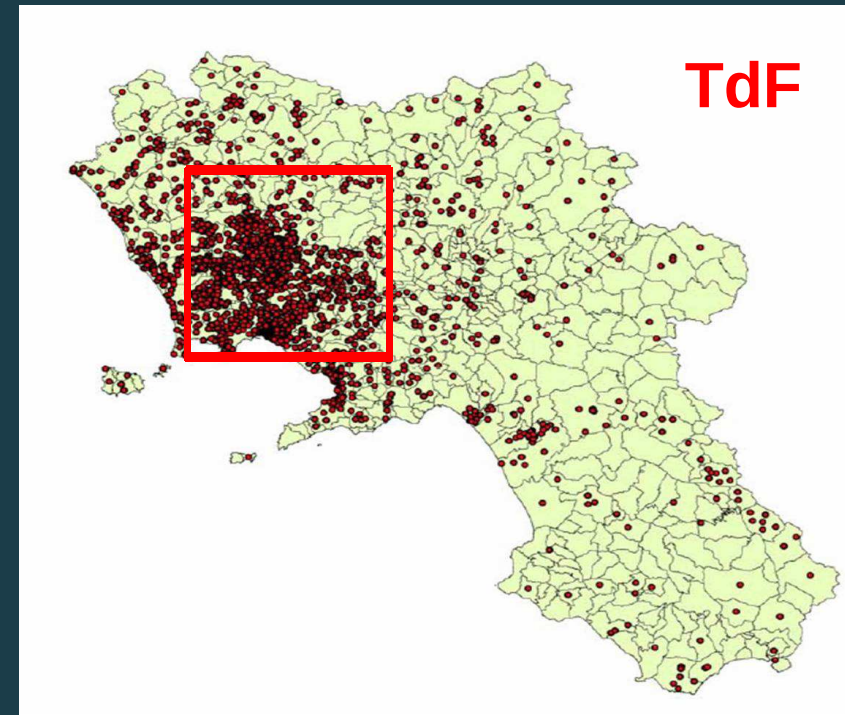
Età media 28 ± 6 ,

n = 94 residenti in comuni tra Napoli e Caserta
(ALTO impatto ambientale; **Terra dei
Fuochi**)

**VALUTAZIONE DELLO STATO NUTRIZIONALE e
ADERENZA ALLA DIETA MEDITERRANEA**

- Food Frequency Questionnaire
- **14-item PREDIMED** questionnaire

SPERMIOGRAMMA



Appendix Table 1. Quantitative Score of Adherence to the Mediterranean Diet

Foods and Frequency of Consumption	Criteria for 1 Point*
1. Do you use olive oil as main culinary fat?	Yes
2. How much olive oil do you consume in a given day (including oil used for frying, salads, out-of-house meals, etc.)?	≥4 tbsp
3. How many vegetable servings do you consume per day? (1 serving = 200 g [consider side dishes as half a serving])	≥2 (≥1 portion raw or as salad)
4. How many fruit units (including natural fruit juices) do you consume per day?	≥3
5. How many servings of red meat, hamburger, or meat products (ham, sausage, etc.) do you consume per day? (1 serving = 100–150 g)	<1
6. How many servings of butter, margarine, or cream do you consume per day? (1 serving = 12 g)	<1
7. How many sweet or carbonated beverages do you drink per day?	<1
8. How much wine do you drink per week?	≥3 glasses
9. How many servings of legumes do you consume per week? (1 serving = 150 g)	≥3
10. How many servings of fish or shellfish do you consume per week? (1 serving = 100–150 g of fish or 4–5 units or 200 g of shellfish)	≥3
11. How many times per week do you consume commercial sweets or pastries (not homemade), such as cakes, cookies, biscuits, or custard?	<3
12. How many servings of nuts (including peanuts) do you consume per week? (1 serving = 30 g)	≥1
13. Do you preferentially consume chicken, turkey, or rabbit meat instead of veal, pork, hamburger, or sausage?	Yes
14. How many times per week do you consume vegetables, pasta, rice, or other dishes seasoned with <i>sofrito</i> (sauce made with tomato and onion, leek, or garlic and simmered with olive oil)?	≥2

* 0 points if these criteria are not met.

PREDIMED SCORE

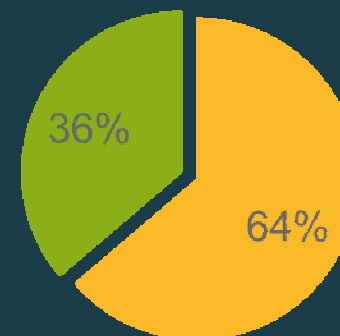
< 7 Low Adherence to the MD

≥ 7 High Adherence to the MD

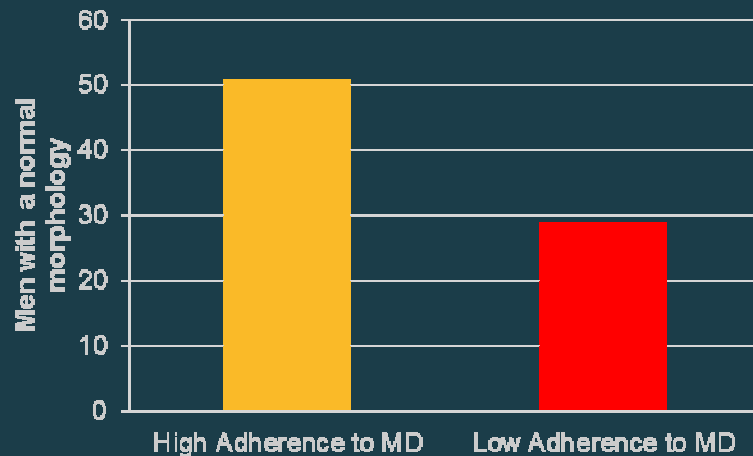
In totale 54 uomini presentavano una buona aderenza alla DM, rispetto a 40 che avevano una aderenza più scarsa

Morfologia ≥ 4%

■ High Adherence to MD ■ Low Adherence to MD



Una maggiore aderenza alla DM si associava a una morfologia nemaspermica migliore



	Low Adherence	High Adherence
Morph <4%	11 (27,5%)	3 (5,6%)
Morph ≥ 4%	29 (72,5%)	51 (94,4%)

È stata riscontrata una differenza significativa tra uomini con alta aderenza e uomini con bassa aderenza alla DM sulla morfologia spermatica (**94,4% vs 72,5%, $p=0,003$**)

Elevato consumo di vegetali caratteristico di un regime dietetico di tipo Mediterraneo ricco in antiossidanti potrebbe sia controbilanciare l'eccessiva produzione di ROS indotta da inquinanti, sia promuovere la detossificazione enzimatica e proteggere la qualità del seme dagli inquinanti.



Responsabile Progetto
 Dottor Antonio Limone
 Commissario Istituto Zooprofilattico
 Sperimentale del Mezzogiorno



Comitato Scientifico di Garanzia
 Professor Bruno Basso
 Department of Geological Sciences
 Michigan State University



**Responsabile Area
 Suolo**
 Professor Benedetto De Vivo
 Geochimica Ambientale
 Università di Napoli Federico II



**Responsabile Area
 Acqua**
 Professor Nunzio Romano
 Direttore CIRAM
 Docente di Idraulica agraria e
 sistemazioni idraulico-forestali
 Università di Napoli Federico II



**Responsabile Area
 Aria**
 Dottor Vincenzo Magliulo
 Primo Ricercatore
 ISAFoM-CNR



**Responsabile Area
 Animale**
 Professor Giuseppe Campanile
 Zootecnia Speciale
 Università di Napoli Federico II



**Responsabile Area
 Medica**
 Dottor Luigi Montano
 Uro-Andrologo
 esperto Patologia Ambientale
 ASL Salerno



**Responsabile Area
 Vegetale**
 Professor Matteo Lorito
 Patologia Vegetale
 Direttore del Dipartimento di Agraria
 Università di Napoli Federico II



**Responsabile Area
 Nucleo Valutazione Criticità**
 Dirigente Superiore Dottor Sergio Costa
 Comandante Regione Campania
 Corpo Forestale dello Stato



**Responsabile Area
 ICT
 (Information Communication Technology)**
 Dottor Cosentino Mansueto



CAMPANIA

TRASPARENTE

PIANO DI MONITORAGGIO INTEGRATO

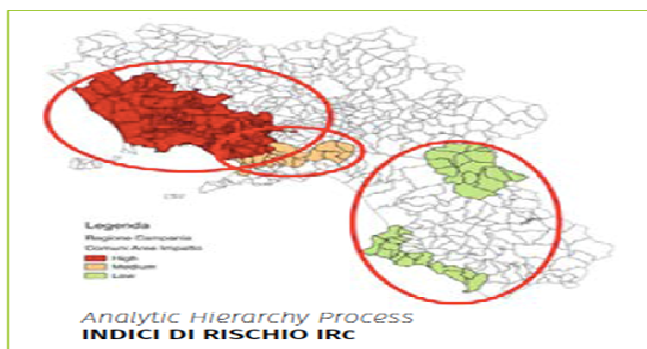


OBIETTIVO PRIORITARIO

Valutare la relazione tra esposizione ambientale e salute in Campania, misurando in maniera sistematica, biomarcatori di esposizione (Metalli, IPA, PCB, Diossine, Nanoparticelle, pesticidi, bisfenoli, ftalati, parabeni), di effetto/danno biologico precoce, di suscettibilità genetica, per diversi fluidi biologici, al fine di verificare eventuali differenze di rischio salute fra residenti nelle diverse aree territoriali campane



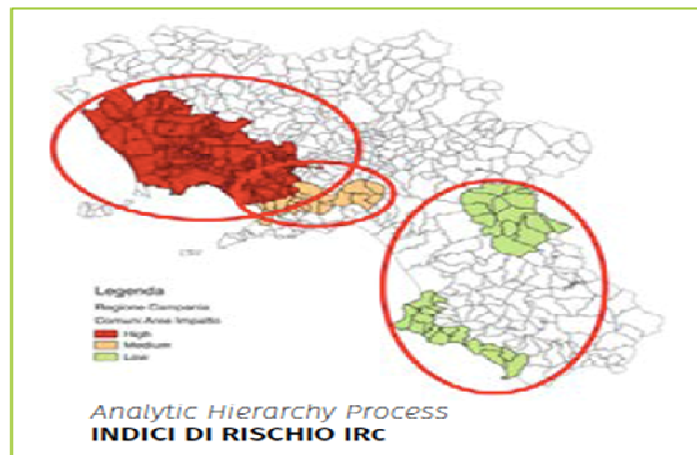
AREE DI IMPATTO E CLUSTERIZZAZIONE



OBIETTIVI RAGGIUNTI: Al momento è stata completata la fase di reclutamento e di prelievo ematico a **4200 SOGGETTI (MASCHI E FEMMINE)**

FASE SUCCESSIVA: SEME UMANO: **500** maschi sani (20-40 anni) nelle aree di campionamento secondo il protocollo «**ECOFODFERTILITY**» con relativo protocollo nutrizionale (**Bonifica Naturale dell'Uomo**)

**AREE DI IMPATTO
E CLUSTERIZZAZIONE**



ALTO IMPATTO

MEDIO IMPATTO

BASSO IMPATTO

Natural breaks

PROGETTO NAZIONALE

Regioni	Area ad ALTO impatto ambientale	Area a BASSO impatto ambientale
Abruzzo	Bussi sul Tirino (PE)	Guardiagrele (CH) - Area Parco della Maiella
Campania	Area Nord della Provincia di Napoli	Area dell'Alto-Medio Sele (SA)
Emilia-Romagna	Comprensorio ceramico Sassuolo, Fiorano, Maranello (MO)	Area Marina di Cervia (RA)
Lazio	Valle del Sacco (FR)	Area di Ladispoli (RM)
Lombardia	Sito di interesse nazionale Brescia-Caffaro	Aree non industriali della provincia di Brescia
Puglia	Taranto	Costa salentina della provincia di Lecce
Sicilia	Gela (CL)	Area delle Madonie (PA)
Toscana	Piombino (LI)	Area San Giuliano Terme, Calci, Cascina (PI)
Veneto	Monselice (PD)	Pieve di Cadore (BL)

:

Partner aggiunti per la Nuova Proposta Progettuale in EUROPA (2018)

- 14. Istituto Nazionale di Salute Pubblica – Dipartimento di Tossicologia e Valutazione del rischio – Varsavia, Polonia (Prof. Jan K. Ludwicki)
- 15. Università di Siviglia- Dipartimento di Urologia – SPAGNA (Prof. Jesus Castineiras Fernandez)
- 16. Institute for Medical Research and Occupational Health (CROATIA) (prof. Aleksandra Fucic)
- 17. School of Medicine –CIPRO (Prof. Elpida-Niki Emmanouil-Nikoloussi)

PROGETTO NAZIONALE

- 18. Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Salute Ambientale, Sezione Epigenetica - MILANO
- 19. Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare (Unità di Tossicologia Alimentare e Veterinaria) – ROMA
- 20. Istituto ZooProfilattico Sperimentale del Mezzogiorno - PORTICI
- 21. Unità Operativa Complessa di Urologia - Ospedale San Camillo – Forlanini - ROMA
- 22. ENEA – Unità di Tossicologia – Radiologia, Biologia e Salute Umana – CASACCIA (Fr)
- 23. Università degli Studi di Brescia, Dipartimento di Epidemiologia e Urologia - BRESCIA
- 24. Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Urologia - MODENA
- 25. Università degli Studi di Pisa, Unità Operativa Complessa di Andrologia - PISA
- 26. ARPA Emilia Romagna, Dipartimento Ambiente-Salute – MODENA
- 27- Ospedale di GELA, Unità Operativa Complessa di Urologia – GELA
- 28. Centro HERA - CATANIA
- 27. Unità Territoriale di Urologia – PESCARA
- 28. Unità Operativa Complessa di Urologia- MARTINAFRANCA (TA)
- 29. Centro «CREA» TARANTO



Bando Ministero della Salute

Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria

Progetto FAST (Fertilità, Ambiente/Alimentazione, Stili di Vita)

Un modello di intervento per la prevenzione dell'infertilità in adolescenti sani residenti in aree a forte impatto ambientale

- 1) U.O.C. di Urologia, Ospedale "S. Francesco d'Assisi" Oliveto Citra, Ambulatorio Pubblico di Andrologia
- ASL Salerno Coordinamento**
- 2) Unità di Igiene, Epidemiologia e Sanità Pubblica e U.O. di Urologia, Università degli Studi di Brescia.**
- 3) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma**
- Unità di ricerca collaboranti**
- 4) Istituto di Scienze dell'Alimentazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche (ISA-CNR), Avellino**
- 5) Laboratorio di Epigenetica, Università degli Studi di Milano**
- 6) Laboratorio Microinquinanti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno Portici**
- 7) Laboratorio di Biosicurezza e Stima del Rischio SSPT-TECS-BIORISC, ENEA CR Casaccia**

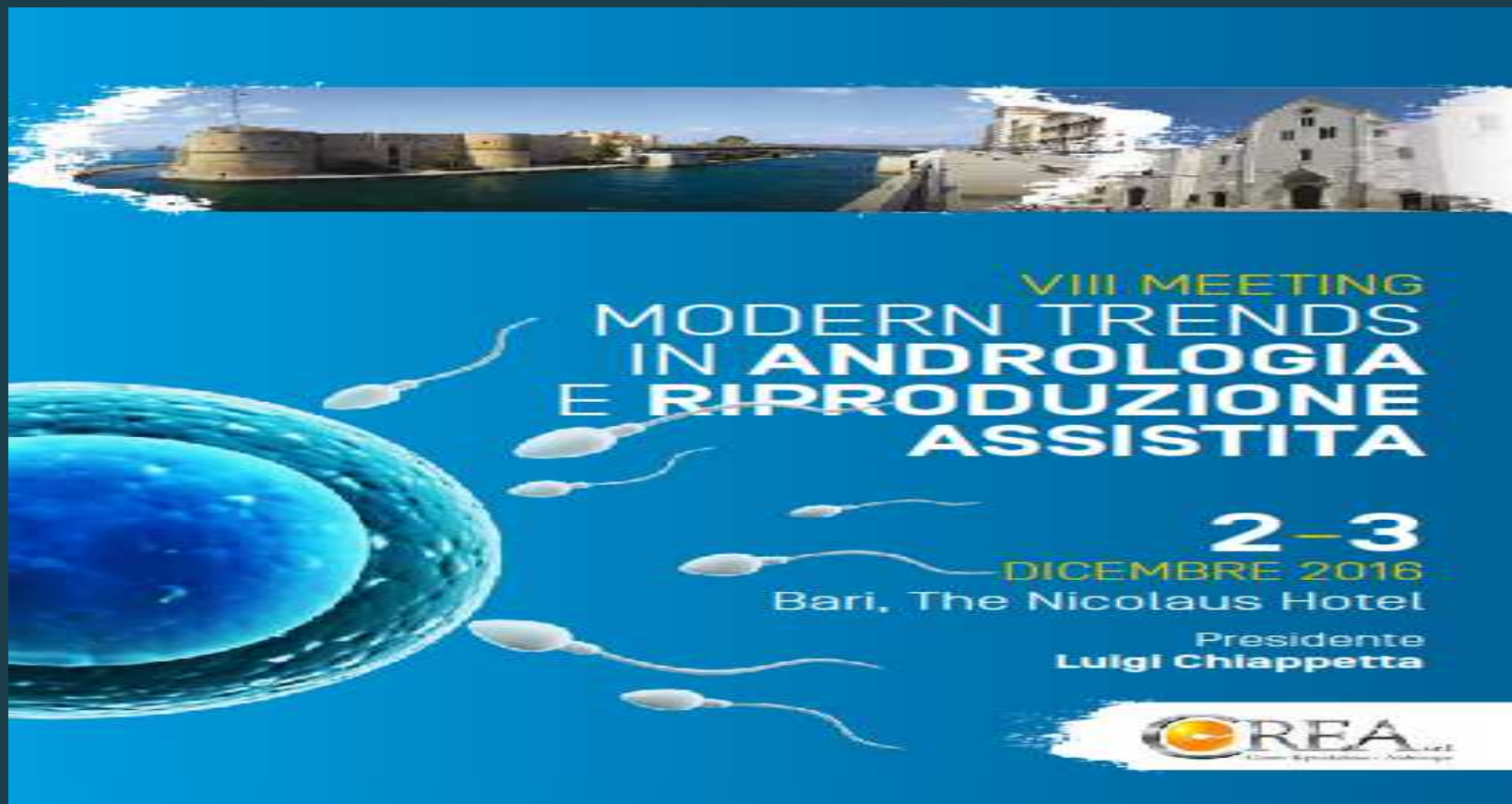
Animazione, diffusione, comunicazione

Rete Nazionale EcoFoodFertility, Cittadinanza Attiva, Associazione Hera, ISDE Medici per l'Ambiente, Società Italiana di Andrologia, Società Italiana di Urologia, FIMMG, SIMPeSV

RETE NAZIONALE ECOFOODFERTILITY

Rete per la Salute Ambientale e Riproduttiva
(RE.S.A.R.)

Un'Alleanza per la Salvaguardia della Fertilità nelle Aree a Rischio



ECOFODFERTILITY EDUCATION

Verso una Rete Internazionale Educativa per la Salute
Ambientale e Riproduttiva

R.I.E.S.A.R

PROGETTO PER LE SCUOLE

ECOFOD FOR LIFE

— AMBIENTE – SCELTE ALIMENTARI – STILI DI VITA – TERRITORIO –
CITTADINANZA ATTIVA



Group of the Progressive Alliance of
Socialist & Democrats
in the European Parliament

6 DECEMBRE 2016
16:00 - 19:00 - Room ASP1H3
European Parliament - Bruxelles

Hosted by **Nicola Caputo MEP**



fratellcapone.it - 0618857866

Health risk prevention in EU areas characterized by High Environmental Pressure

Speakers:

16:10

Luigi Montano

UroAndrologist, Coordinator of EcoFoodFertility project, ASL Salerno - Italy
Human semen as an early and reliable tool of environmental impact assessment
on human health, useful for innovative prevention programs
and health surveillance in risk areas

16:25

Aleksandra Fucic

Sci adviser, Institute for Medical Research and Occupational Health - Croatia
Biomonitoring of newborns and children associated with exposure to genotoxic agents

16:35

Elpida Niki Emmanouil-Nikoloussi

Histology-Embryology - European University Cyprus
Prevention of birth defects in contaminated areas

16:45

Jean Pierre Bourguignon

Neuroendocrinology Unit, GIGA Neurosciences, Univ. Liège - Belgium
Neurodevelopmental disruption from prenatal life to adolescence

17:00

Alberto Mantovani

Senior toxicologist, Istituto Superiore di Sanità, Roma - Italy
From AOPs to biomarkers: the contribution
of toxicological data sets to health risk prevention in children

17:10

Stefania Ubaldi

President of the European Life Style Medicine Organization, Geneva - Switzerland
Lifestyle as a tool to modulate the environmental impact on health

17:20

Maurizio Dattilo

Parthenogen, Lugano - Switzerland
Epigenetic-environment interaction and the role of diet

17:30

Josaine Masson

Policy Officer at the European Commission
Soil protection and sustainable land use

17:40

Michel Pletchette

Adviser at the European Commission on health science

17:50

Hubert Deluyker

Scientific Adviser to the EFSA Executive Director
Approaches for linking scientific developments with risk assessment methodologies

18:00

Verstraete Frans

DG Health and Food Safety
Environmental contaminants in food

18:10

Ann Utsalu

Programme Officer - DG Research

18:20

Question & Answers

Partner of EcoFoodFertility project

Jan Ludwicki (Poland)

Aleksandros Kopa (Hungary)

Jri Rubens (Rep. Ceck)

Radim J. Sram (Rep. Ceck)

Jesus Fernandez Castiñeiras (Spain)

Interpretation in IT-EN



Health risk prevention in EU areas characterized by High Environmental Pressure

6 December 2016 16:00 – 19:00
European Parliament - Room ASP1H3
EN-IT interpretation

Dr. **Luigi Montano**

Uro-Andrologist, Coordinator of EcoFoodFertility Project, ASL Salerno – Italy

“Human semen as an early and reliable tool of environmental impact assessment on human health, useful for innovative prevention programs and health surveillance in risk areas”

Referenze Bibliografiche dei lavori pubblicati ed in corso di pubblicazione di EcoFoodFertility

- 1) EcoFoodFertility – Environmental and food impact assessment on male reproductive function. L.Montano, L. Iannuzzi, J. Rubes, C. Avolio, C. Pistos, A. Gatti, S. Raimondo, T. Notari, Andrology 2(Suppl.2):69, 2014
- 2) Valutazione dell'impatto ambientale sull'integrità del DNA nemaspermico mediante misurazione della proteina p53: dati preliminari (Progetto EcoFoodFertility). L. Montano, S. Raimondo, T. Notari, P. Bergamo, M. Rossi, D. Luongo, MG. Volpe, L. Iannuzzi Arch.Ital.Urol.Androl. 87 (Suppl.1):2, 2015
- 3) Evaluation of Environmental Impact on Sperm DNA integrity by Sperm Chromatin Dispersion Test ad p53 Elisa: Preliminary data. (EcoFoodFertility Project). L. Montano, T. Notari, S. Raimondo, P. Bergamo, M. Rossi, D. Luongo, MG Volpe, L. Iannuzzi. Reproductive Toxicology. Vol. 56: 20, 2015
- -----
- 4) Human semen as an early, sensitive biomarker of highly polluted living environment in healthy men: a pilot biomonitoring study on trace elements in blood and semen and their relationship with sperm quality and RedOx status. P. Bergamo, MG. Volpe, S. Lorenzetti, A. Mantovani, T. Notari, E. Cocca, S. Cerullo, M. Di Stasio, P. Cerino, L. Montano (Reproductive Toxicology sept. 2016)
- 5) Environmental pollutants: genetic damage and epigenetic changes in male germ cells" C. Vecoli, L. Montano, MG. Andreassi. (Environmental Science and Pollution Research in press)
- Lavori già in sottomissione a riviste internazionali
- 6) "Unusual Aberration of Y Chromosome in a Young Man with non-obstructive azoospermia and short stature. Cancemi D., Montano L., Iannuzzi L., Morelli F., Spanpanato C., Ventruto ML., Lonardo MC., Lonardo V., Urciuoli M., Ventruto V. (Fertility and Sterility
- 7) Environmental impact assessment on human fertility in males living in polluted areas of Campania region by cytokinesis-block micronucleus assay and SCE test. Genuardo V., Perucatti A., Iannuzzi A., Iorio C., Ianuario S., D. Incarnato, C. Rossettia, L. Montano, L. Iannuzzi (Chromosome Research.....)

Save the date

1° Congresso Nazionale della Società
Italiana della Riproduzione Umana
Roma 14-16 Dicembre 2017





THANKS

www.ecofoodfertility.it