

Istituto Ramazzini

Centro di Ricerca sul Cancro Cesare Maltoni



Aspartame: un caso
storico ed emblematico
di ricerca indipendente

Dott.ssa Fabiana Manservigi

Verona

18 Aprile 2015

L'ISTITUTO RAMAZZINI

L'Istituto Nazionale "B. Ramazzini"

□ L'Istituto Nazionale per lo studio e il controllo dei tumori e delle malattie ambientali "B. Ramazzini" è una cooperativa sociale ONLUS costituita nel 1987 che conta ad oggi più di **25.000 soci**



L'Istituto Nazionale "B. Ramazzini"

□ Scopi dell'Istituto Ramazzini:

- l'attuazione di iniziative per **la prevenzione** di tumori attraverso una strategia basata sulla promozione della ricerca scientifica
- la **formazione** di personale specializzato
- la **diffusione dell'informazione** sui **rischi cancerogeni** ambientali e **professionali**
- la messa in atto di programmi clinici di **diagnosi precoce** dei tumori

LA RICERCA SPERIMENTALE

- L'IR gestisce il **Centro di Ricerca sul Cancro Cesare Maltoni** di Bentivoglio dove vengono condotti studi sperimentali per l'identificazione di agenti cancerogeni e studi sulla efficacia di farmaci antitumorali
- Attraverso i ricercatori del Centro di Ricerca l'IR svolge attività di **formazione** di giovani medici e ricercatori e di **informazione** per la popolazione

The CMCRC (1969)



Cesare Maltoni
(1930-2001)



Castle built on 1475
Domus Jucunditatis
of Bentivoglio family



History.....



...and science



h465227 [RM] © www.visualphotos.com



Istituto Ramazzini: background

- A partire dal 1969, sono stati condotti 210 studi sperimentali su ratti e topi
- Questo programma è il secondo al mondo dopo quello del National Toxicology Program (NTP, USA)
- Gli esperimenti sono condotti secondo un protocollo Life-span (~3 anni)
- Il CRCCM comprende l'allevamento degli animali sperimentali il cui albero genealogico è tracciato dal 1970. Da allora, sono stati generati più di 200.000 animali



Ricerche condotte presso il CRCCM

- Al CRCCM sono stati studiati oltre **200 agenti** presenti nell'ambiente di lavoro o della vita quotidiana
- In particolare, è stata dimostrata la cancerogenicità di composti quali: il cloruro di vinile, il benzene, varie tipologie di carburanti, loro costituenti e additivi, e pesticidi, l'aspartame, uno dei dolcificanti artificiali più diffusi al mondo
- I risultati di numerosi studi condotti nel corso degli anni hanno costituito **la base scientifica per l'abbassamento dei livelli espositivi a vari agenti presenti negli ambienti di vita lavorativa e/o quotidiana**

Il progetto sperimentale dell'Istituto Ramazzini

- Composti/agenti studiati: **210**
- Composti/agenti elaborati **120**

- Cancerogenicità:
 - Chiara evidenza (44%)
 - Evidenza borderline (16%)
 - No evidenza di cancro (40%)

IL MODELLO SPERIMENTALE DELL'ISTITUTO RAMAZZINI

Il modello sperimentale del CRCCM/IR

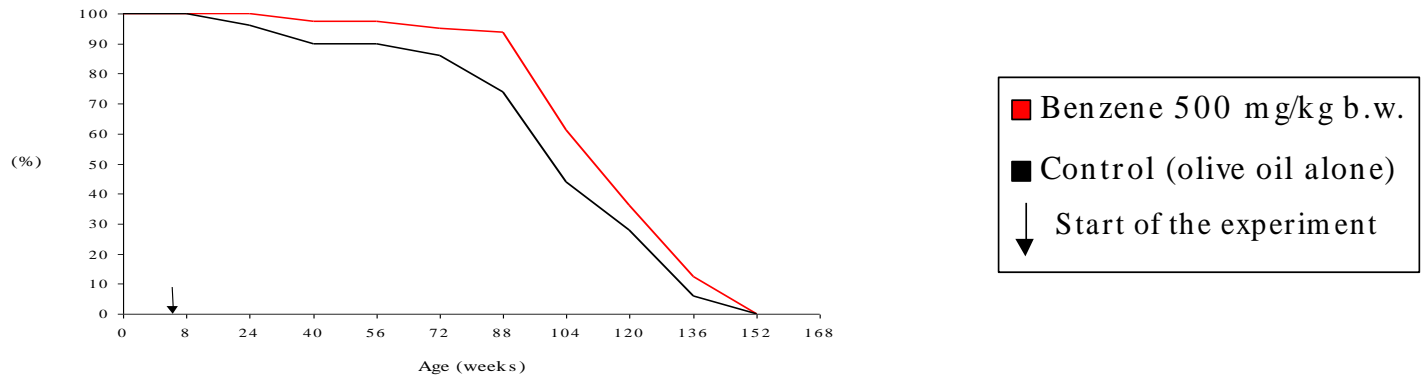
Requisiti necessari alla pianificazione e alla conduzione dei saggi di cancerogenicità a lungo termine:

1. Utilizzo di specie animali con tumorigramma di base e tipo di risposta cancerogena non troppo remote dalla controparte umana
2. Tenere sotto controllo gli animali sperimentali **fino a morte spontanea o almeno fino a 130 settimane di età** (75 anni nell'uomo)
3. Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio come standard per la conduzione dell'esperimento
4. Standardizzare le procedure sperimentali in tutte le fasi

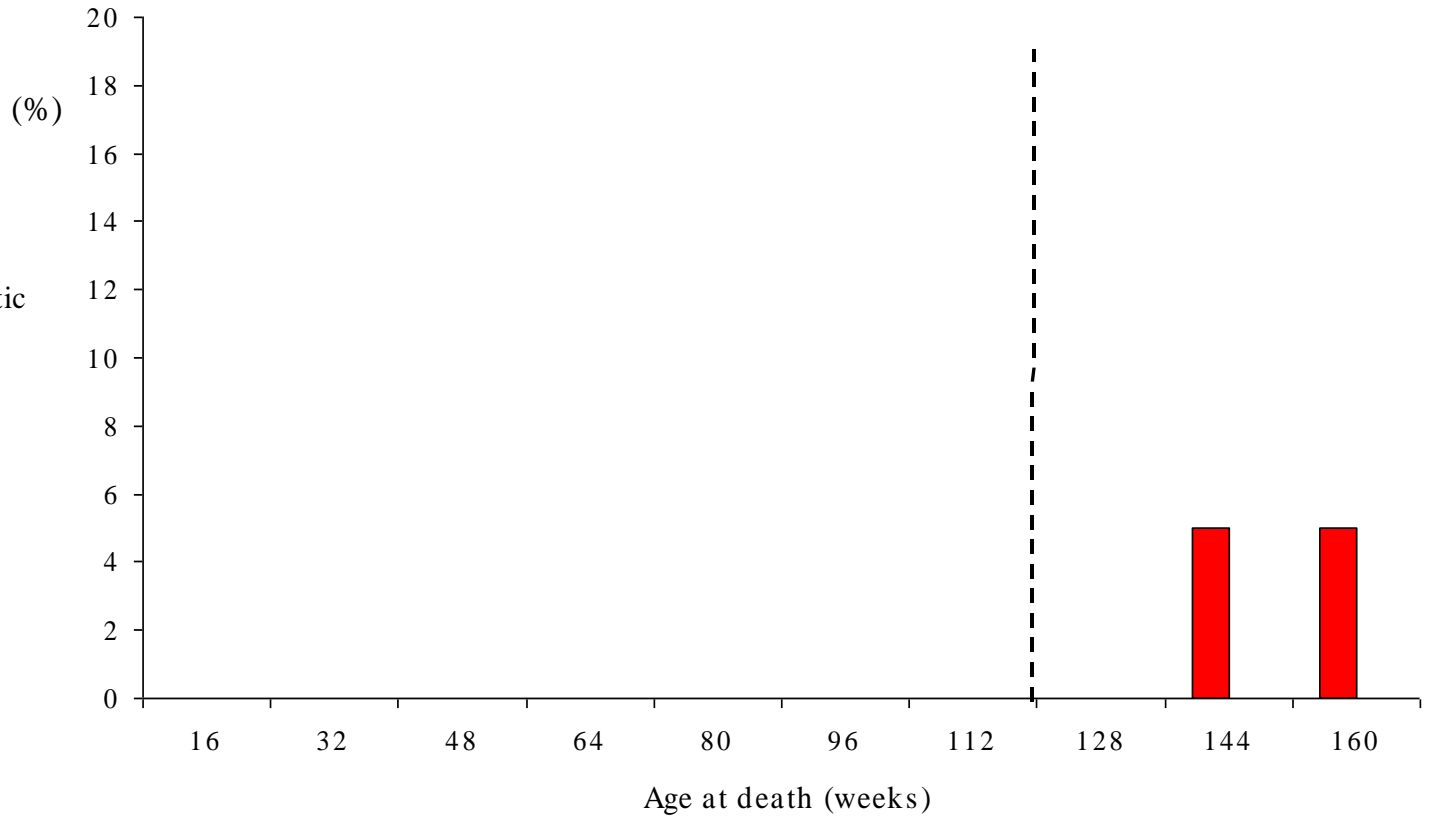
Caratteristiche peculiari del disegno e della conduzione sperimentale del CRCCM/IR

- Gruppi sperimentali: M ed F per ciascun gruppo sperimentale; 50-60 o più animali per sesso/gruppo; 2-3 o più gruppi sperimentali (compreso i gruppi di controllo)
- Inizio del trattamento: durante la vita embrionale (12° giorno di gestazione)/ perinatale/ 6-8 settimane di vita/ eccezionalmente ad altre età
- Durata del trattamento: 104 settimane / tutta la vita (life-span) o eccezionalmente altre durate
- Durata dell'esperimento: **fino a morte spontanea**. Espressione completa del potenziale cancerogeno dell'agente testato.

Survival



Cumulative prevalence
of animals with hepatic
angiosarcomas
histopathologically
observed,
by age at death

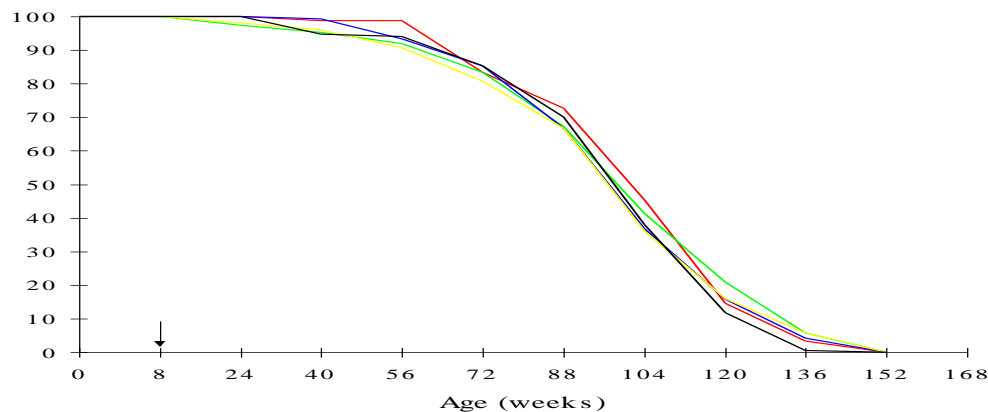


Hepatic haemangiosarcoma in Sprague-Dawley male rats

Benzene

Survival

(%)



MANCOZEB

1000 ppm

500 ppm

100 ppm

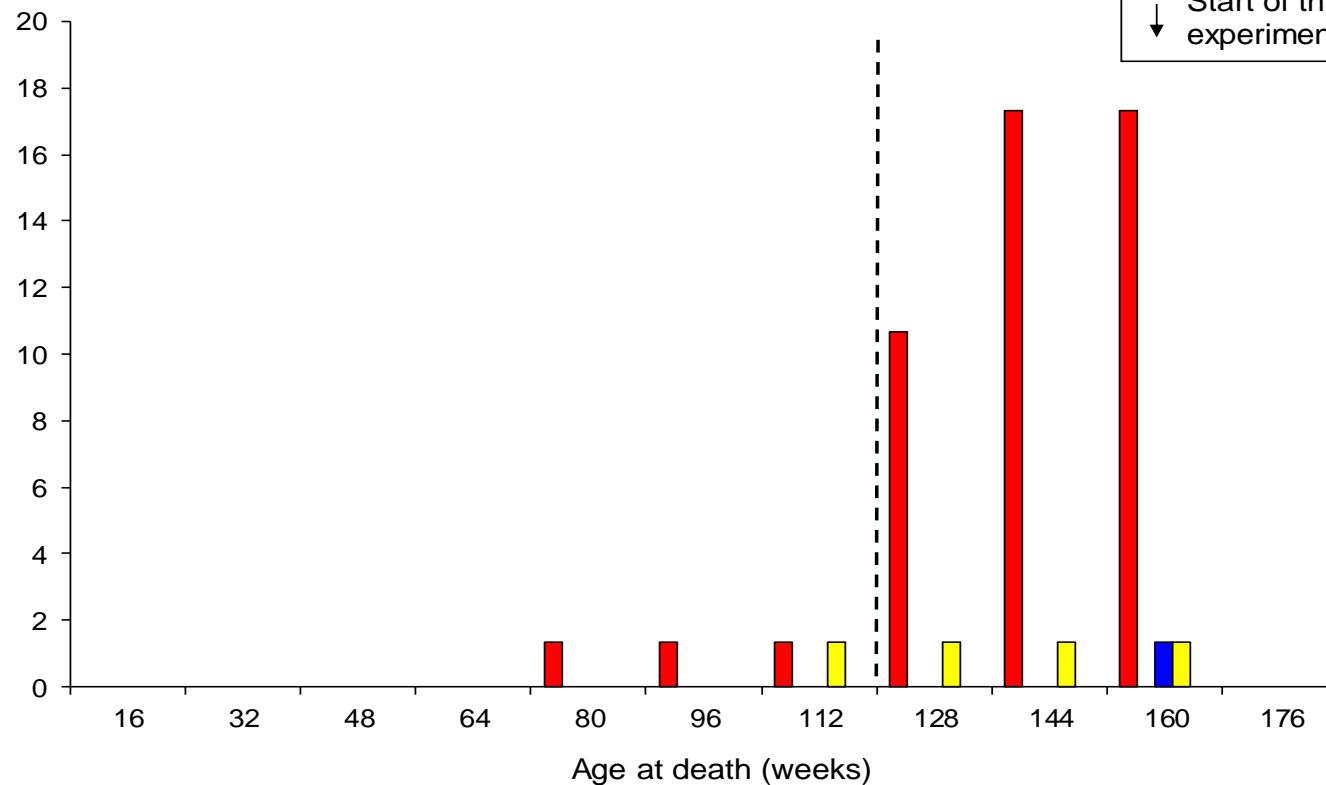
10 ppm

Control

↓ Start of the experiment

(%)

Cumulative prevalence
of animals with
malignant tumors of the
thyroid gland,
histopathologically
observed,
by age at death



Thyroid malignant tumors in female Sprague-Dawley rats

Mancozeb

il caso Aspartame (APM)

APM: produzione e usi

- 18.000 tonnellate prodotte nel 2007
- 62% del mercato dei dolcificanti
- Secondo dolcificante artificiale dopo la saccarina
- Più di 200 milioni di consumatori nel mondo
- Presente in più di 6.000 prodotti, inclusi circa 500 medicinali







APM: assunzione

- Indagini sull'assunzione media giornaliera di APM nei consumatori degli Stati Uniti:
 - Popolazione generale: 2-3 mg/kg p.c.
 - Bambini/donne in età fertile: 2,5-5 mg/kg p.c. [Butchko et al., 2002].
 - L'assunzione di APM è simile in altri paesi, compresi 7 paesi europei

APM: esempio di una possibile assunzione giornaliera

prodotto	quantità/giorno	APM assunto
Bevande light (200 mg/lattina)	2 lattine	400 mg
Yogurt (125 mg/yogurt)	2 yogurt	250 mg
Dolciumi light (75mg/mousse)	1 porzione	75 mg
Caffé con dolcificante (40 mg/busta)	4 caffè	160 mg
Caramelle, gomme da masticare (2,5 mg/caramella)	10 gomme	25 mg
Totale		910 mg

Equivalente a:

Donna di 60 kg = 15,1 mg/kg peso corporeo

Donna di 50 kg = 18,2 mg/kg peso corporeo

Bambino di 30 kg = 30,3 mg/kg peso corporeo

Bambino di 20 kg = 45,5 mg/kg peso corporeo

APM: approvazioni legislative

- US Food and Drug Administration
 - 1974: commercializzazione
 - 1981: alimenti solidi
 - 1983: bevande
 - 1996: tutti gli alimenti

Quantità di assunzione giornaliera, USA (ADI): 50 mg/Kg p.c.

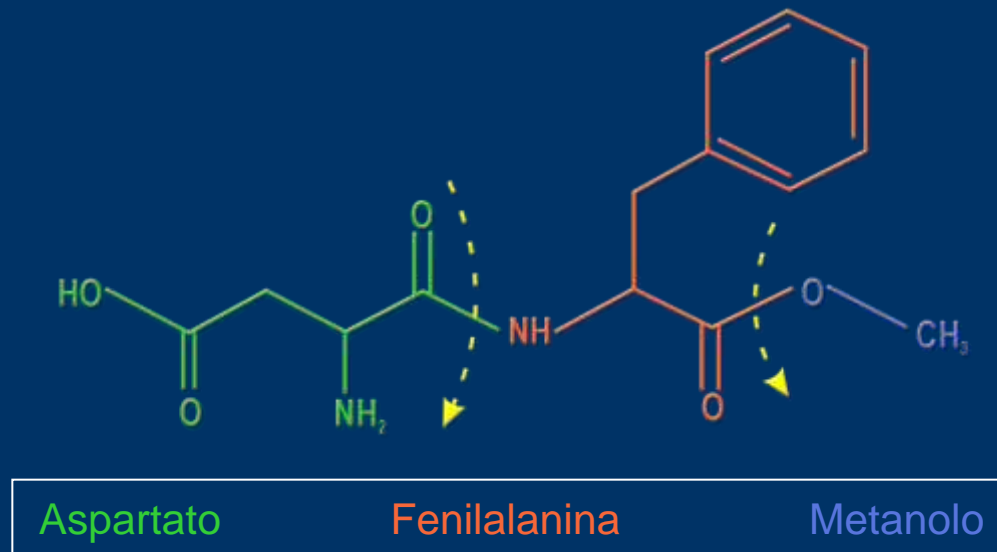
- UE

- Decretato sicuro nel 1994

Quantità di assunzione giornaliera, Europa (ADI): 40 mg/Kg p.c.

APM: metabolismo

- Metabolizzato nel tratto GI come acido aspartico, fenilalanina e metanolo, sia nell'uomo che negli animali



- I metaboliti, una volta assorbiti, entrano in circolazione nel sangue

APM: genotossicità e carcinogenicità

- **Genotossicità:** diversi studi *in vitro* ed *in vivo* hanno dimostrato che l'APM non è genotossico
- **Carcinogenicità:**
 - 1970-1980: studi su ratti Sprague-Dawley, Wistar e topi Swiss che noi consideriamo inadeguati sulla base delle attuali linee guida per la conduzione di studi sperimentali di cancerogenesi sui roditori
 - 2001: studi condotti dal National Toxicology Program (NTP, USA) su modelli di topo transgenici

il progetto sperimentale integrato
sull'Aspartame dell'Istituto Ramazzini
(data inizio: 1997)

Istituto Ramazzini > progetto integrato su APM

animali

esperimento	specie	numero	stato dell'arte
primo	ratti S-D	1800	pubblicato (2005)
secondo	ratti S-D	470	pubblicato (2007)
terzo	ratti S-D	429	in corso (biofase terminata)
quarto	ratti S-D	430	in corso (biofase terminata)
quinto	topi Swiss	852	pubblicato (2010)

5 ESPERIMENTI

3981 RODITORI

APM I:
primo esperimento (2005)

APM: Study design of the First Experiment (BT 6008)

Group No.	Animals (Sprague-Dawley rats)			Treatment		Duration
	Age at start (weeks)	Sex	No.	Dose		
				ppm	mg/Kg b.w. ^{a, b}	
I	8	M	100	100,000	5,000 (100 X)	Life span
		F	100			
		M+F	200			
II	8	M	100	50,000	2,500 (50 X)	Life span
		F	100			
		M+F	200			
III	8	M	100	10,000	500 (10 X)	Life span
		F	100			
		M+F	200			
IV	8	M	150	2,000	100 (2 X)	Life span
		F	150			
		M+F	300			
V	8	M	150	400	20 (0.4 X)	Life span
		F	150			
		M+F	300			
VI	8	M	150	80	4 (0.08 X)	Life span
		F	150			
		M+F	300			
VII	8	M	150	0	—	Life span
		F	150			
		M+F	300			
TOTAL			1,800			

^a Considering the average weight of a rat as 400 g, and average food consumption as 20 g per day

^b Between brackets: the human acceptable daily intake (ADI) equivalent, considering an ADI of 50 mg/Kg b.w. for humans

APM I: animali portatori di tumori maligni

animali	ppm nel cibo (mg/kg p.c.) ^a						
	100.000 (5.000)	50.000 (2.500)	10.000 (500)	2.000 (100)	400 (20)	80 (4)	0 (controllo)
maschi (%)	43.0	38.0	34.0	40.0	32.0	29.3	35.3*
femmine (%)	51.0	58.0##	40.0	44.7	46.7	42.7	36.7**

^a i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

* (p<0.05) con il test Cochran-Armitage; ** (p<0.01)

(p<0.05) con il test poly-k (k = 3); # # (p<0.01)

APM I: lesioni preneoplastiche atipiche (LPA) e neoplastiche maligne (CA) delle cellule dell'epitelio di transizione della pelvi renale e dell'uretere

animali/lesioni	ppm nel cibo (mg/kg p.c.) ^{a, b}						
	100.000 (5.000)	50.000 (2.500)	10.000 (500)	2.000 (100)	400 (20)	80 (4)	0 (controllo)
femmine/LPA (%)	11.0	7.1	7.0	4.7	4.0	3.3	1.3**
femmine/CA (%) ^c	4.0#	3.0	3.0	2.0	2.0	0.7	-
totale (%)	15.0##	10.1##	10.0##	6.7#	6.0#	4.0	1.3 ***##

^a i p-values corrispondenti al confronto tra controllo e gruppo trattato sono indicati vicino all'incidenza del gruppo trattato.

^b i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

^c incidenza di CA nei controlli storici delle femmine (2.274): 0.04% (range: 0-1.0%).

** (p<0.01) con il test Cochran-Armitage.

(p<0.05) con il test poly-k (k = 3); ## (p<0.01)

APM I: schwannomi maligni dei nervi periferici

animali	ppm nel cibo (mg/kg p.c.) a, b						
	100.000 (5.000)	50.000 (2.500)	10.000 (500)	2.000 (100)	400 (20)	80 (4)	0 (controllo)
maschi (%)	4.0	3.0	2.0	1.3	2.0	0.7	0.7 *#

^a incidenza di schwannomi maligni nei controlli storici dei maschi (2.265): 0.4% (range: 0-2.0%).

^b i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

* (p<0.05) con il test Cochran-Armitage.

(p<0.05) con il test poly-k (k = 3).

APM I: linfomi/leucemie

animali	ppm nel cibo (mg/kg p.c.) ^{a, b, c}						
	100.000 (5.000)	50.000 (2.500)	10.000 (500)	2.000 (100)	400 (20)	80 (4)	0 (controllo)
femmine (%)	25.0##	25.0##	19.0#	18.7#	20.0##	14.7	8.7***

^a incidenza di linfomi e leucemie nei controlli storici delle femmine (2.274): 13.3% (range: 4.0-25.0%).

^b i p-values corrispondenti al confronto tra controllo e gruppo trattato sono indicati vicino all'incidenza del gruppo trattato.

^c i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

** (p<0.01) con il test Cochran-Armitage.

(p<0.05) con il test poly-k (k = 3); ## (p<0.01)

APM I: conclusioni (1/2)

APM ha un effetto cancerogeno multipotente sulla base di:

- Un aumento dose-correlato di **linfomi/leucemie (L/L)**, il cui significato é rinforzato dai risultati di esperimenti condotti nel nostro laboratorio nelle stesse condizioni sperimentali:

Metanolo, che viene metabolizzato a formaldeide e quindi ad acido formico nell'uomo e nel ratto, induce un significativo aumento di **L/L** in ratti Sprague-Dawley femmine.

MTBE, che viene metabolizzato a metanolo e quindi a formaldeide, induce un significativo aumento di **L/L** in ratti Sprague-Dawley femmine.

Formaldeide, induce un aumento altamente significativo, dose-correlato di **L/L** nei ratti Sprague Dawley sia maschi che femmine.

APM I: conclusioni (2/2)

- Un aumento dose-correlato dell'incidenza dei **carcinomi delle cellule dell'epitelio di transizione e loro precursori displastici** combinati delle pelvi renali e degli ureteri, nelle femmine.
- Nessun effetto cancerogeno è stato osservato per le pelvi renali e gli ureteri e per i nervi periferici negli studi a lungo termine condotti nelle stesse condizioni al CRCCM/IR su metanolo, MTBE e formaldeide.
- Studi per valutare la potenziale cancerogenicità **dell'acido aspartico** o della **fenilalanina** per questi organi e tessuti sono quindi cruciali.

APM II:
secondo esperimento (2007)

APM: Study design of the Second Experiment (BT 6009)

Group No.	Animals (Sprague-Dawley rats)			Treatment		
	Age at start (weeks) ^a	Sex	No.	Dose		Duration
				ppm	mg/Kg b.w. ^{b, c}	
I	Embryo	M	70	2,000	100 (2 X)	Life span
		F	70			
		M+F	140			
II	Embryo	M	70	400	20 (0.4 X)	Life span
		F	70			
		M+F	140			
III	Embryo	M	95	0	—	Life span
		F	95			
		M+F	190			
TOTAL			470			

^a The experiment started from the 12th day of embryonic life, treating the pregnant breeders.

^b Considering the average weight of a rat as 400 gr, and average food consumption as 20 gr per day.

^c Between brackets: the human acceptable daily intake (ADI) equivalent, considering an ADI of 50 mg/Kg b.w. for humans

APM II: animali portatori di tumori maligni

animali	ppm nel cibo (mg/kg p.c.) ^a		
	2.000 (100)	400 (20)	0 (controllo)
maschi (%)	40.0 **	25.7	24.2**
femmine (%)	52.9	44.3	44.2

^a i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

** (p<0.01) con Cox Regression model.

APM II: tumori maligni della ghiandola mammaria

animali	ppm nel cibo (mg/kg p.c.) ^a		
	2.000 (100)	400 (20)	0 (controllo)
maschi (%)	2.9	-	-
femmine (%)	15.7*	7.1	5.3*

^a i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

** (p<0.01) con Cox Regression model.

APM II: tumori maligni della ghiandola mammaria nelle femmine: confronto esposizione prenatale vs. postnatale

dose, ppm (mg/kg p.c.)	femmine con cancro mammario (%) ^{a, b}	
	esposizione prenatale	esposizione postnatale
2.000 (100)	15.7*	8.0
400 (20)	7.1	10.7
0 (controllo)	5.3*	5.3

^a i p-values corrispondenti al confronto tra controllo e gruppo trattato sono indicati vicino all'incidenza del gruppo trattato.

^b i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

[°] (p<0.05) con Cox Regression model.

APM II: linfomi/leucemie nelle femmine: confronto esposizione prenatale vs. postnatale

dose, ppm (mg/kg b.w.)	femmine con linfomi/leucemie (%) ^{a, b, c}	
	esposizione prenatale	esposizione postnatale
2.000 (100)	31.4^{°°}	18.7[#]
400 (20)	17.1	20.0^{##}
0 (controllo)	12.6^{°°}	8.7^{**#}

^a i p-values corrispondenti al confronto tra controllo e gruppo trattato sono indicati vicino all'incidenza del gruppo trattato.

^b i p-values associati con il trend test sono vicini all'incidenza del controllo.

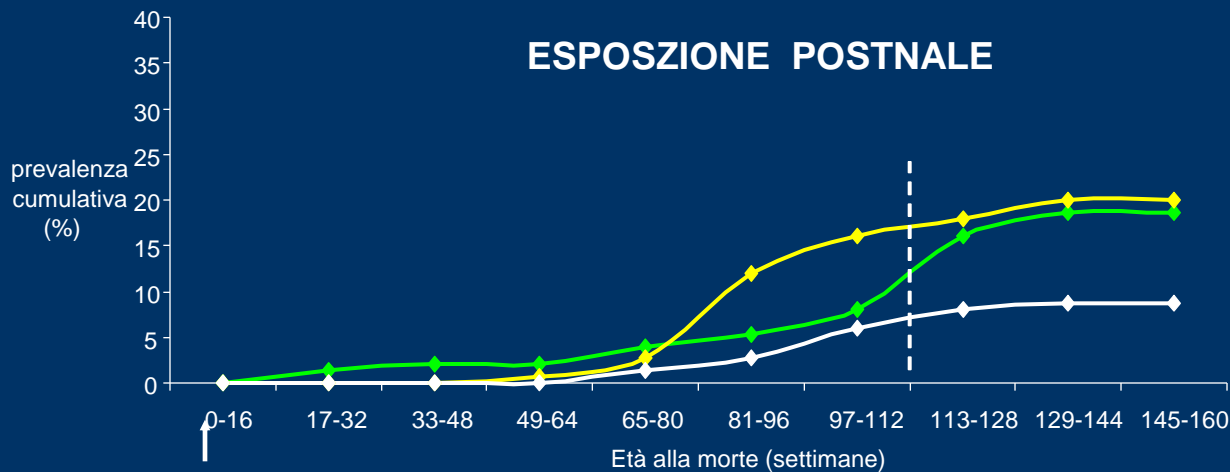
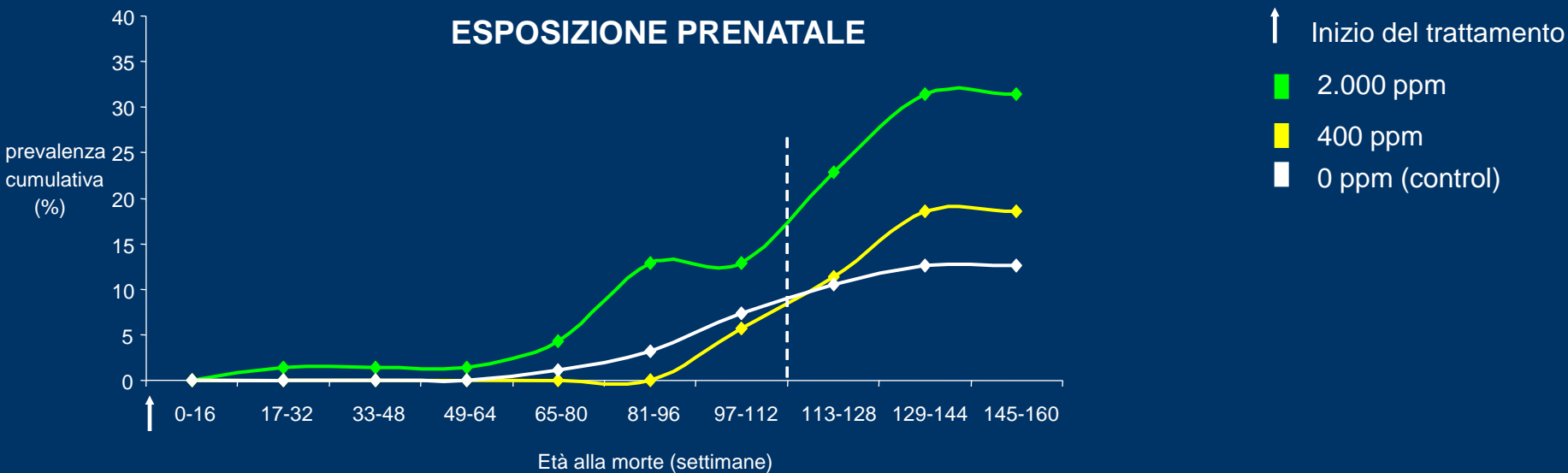
^c i p-values associati con la relazione dose-risposta sono riferiti ai valori del primo esperimento.

^{**} (p<0.01) con il test Cochran-Armitage.

[#] (p<0.05) con il test poly-k (k = 3); ^{##} (p<0.01)

^{°°} (p<0.01) con Cox Regression model.

APM II: confronto delle prevalenze cumulative di linfomi/leucemie per età di morte

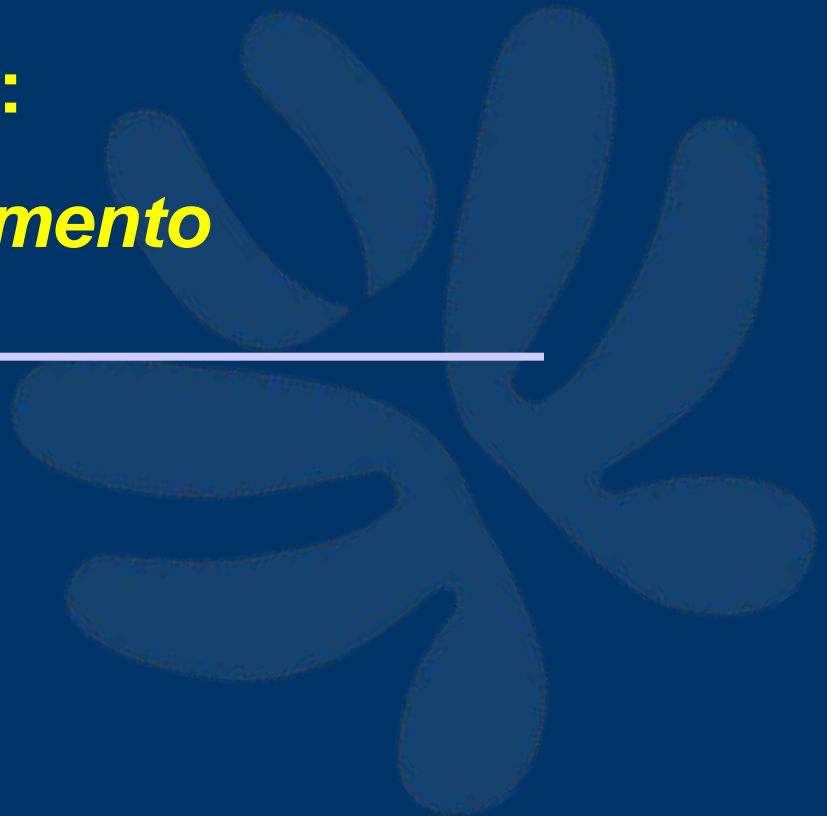


APM II : conclusioni

I risultati del secondo studio non solo confermano, ma rafforzano le conclusioni del primo studio. L'APM è un agente cancerogeno multipotente sulla base di:

- Un aumento significativo, dose-correlato dell'incidenza di **linfomi/leucemie** nelle femmine e nei maschi trattati a 2000 ppm.
- Un aumento significativo, dose-correlato di tumori maligni della ghiandola mammaria nelle femmine, in particolare in quelle trattate a 2000 ppm.
- Inoltre, quando l'APM viene somministrato a partire dalla vita fetale per tutta la vita, **gli effetti cancerogeni sono anticipati.**

APM III:
terzo esperimento



APM III: piano dell'esperimento su topi Swiss

età	sesso	dose/gruppo ppm (mg/Kg bw) ^a					TOTALE
		32.000 (4.000)	16.000 (2.000)	8.000 (1.000)	2.000 (250)	0	
vita fetale	n. maschi	83	64	73	122	102	444
vita fetale	n. femmine	62	64	62	103	117	408
totale		145	128	135	225	219	852

^a trattamento lifespan (per tutta la vita).

Esperimento sui topi Swiss: tumori del polmone nei maschi^a (%)

Animali	Tumori	dose/gruppo ppm (mg/Kg bw)				
		32.000 (4.000)	16.000 (2.000)	8.000 (1.000)	2.000 (250)	0
Maschi	Adenomi	7.2	10.9	11.3	8.7	6.8
Maschi	Adenocarcinomi	13.3*	12.5	11.3	5.8	6.0*
Totale		20.5	23.4	22.6	14.6	12.8

^a p-values associated with the trend test are near the control incidence

* significant (p<0.05) using Cox Regression Model

Esperimento sui topi Swiss : adenomi e carcinomi epatocellulari nei maschi^a, %

Animali	Tumori	dose/gruppo ppm (mg/Kg bw)				
		32.000 (4.000)	16.000 (2.000)	8.000 (1.000)	2.000 (250)	0
Maschi	Adenomi	2.4	9.4	6.5	9.7	7.7
Maschi	Carcinomi	18.1**	15.6*	14.5	11.7	5.1**
Totali		20.5	25.0	21.0	21.4	12.8

^a p-values associated with the trend test are near the control incidence

* significant (p<0.05) using Cox Regression Model

** significant (p<0.01) using Cox Regression Model

Summary of the carcinogenic effects of APM in rodents

Significantly increased malignant tumors

Species	Age at start	Lymph/leuk		Kidneys CP		Nervous sys. MS		Mammary ADC		Lung ADC		Liver HCC	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
S-D rats	8 weeks		+		+		+						
			DR		DR		DR						
S-D rats	fetal	+	+						+				
			DR						DR				
S-mice	fetal									+		+	
										DR		DR	

+= significantly increased;
 DR= Dose-related;
 CP= Carcinomas of the pelvis & ureter;

MS= Malignant Schwannomas;
 ADC= Adenocarcinomas;
 HCC= Hepatocellular carcinomas;

Il caso Aspartame: gli ultimi studi epidemiologici



Recenti studi epidemiologici

- Lim et al. (2006) hanno pubblicato i risultati di uno studio che analizzava il rapporto tra consumo di aspartame contenuto nelle bevande e incidenza di linfomi/leucemie e tumori del cervello. Questi risultati si basavano su dati provenienti da uno studio condotto dell'NIH e dall'Associazione Americana Pensionati, su un gruppo di > 285.000 uomini e 188.000 donne tra i 50 e i 71 anni, che avevano risposto in maniera soddisfacente a un questionario sui consumi alimentari.
- Il questionario comprendeva domande sul consumo, nell'anno precedente, di bevande (bibite analcoliche, succhi di frutta, tè freddi zuccherati) potenzialmente dolcificate con aspartame. I questionari furono raccolti dal 1995 al 1996 e analizzati fino al 2000.
- Le conclusioni dello studio non supportarono l'ipotesi che l'aspartame induca un aumento di tumori cerebrali o dell'apparato ematopoietico.

Recenti studi epidemiologici

- (Gallus et al. 2007) hanno pubblicato i risultati di una serie di studi condotti in Italia tra il 1991 e il 2004 sulla potenziale correlazione tra i dolcificanti artificiali (incluso l'aspartame) e il cancro.
- Gli autori intervistarono portatori di tumori, istologicamente confermati, di cavità orale e faringe (598), esofago (304), colon (1.225), retto (728), laringe (460), seno (2.569), ovaie (1.031), prostata (1.294), e reni (lesioni neoplastiche della pelvi renale 767). Furono controllati 7.028 pazienti (3.301 uomini e 3.727 donne) ricoverati nello stesso istituto a seguito di disturbi acuti, non neoplastici. Durante la degenza, i pazienti compilarono **un questionario sulle loro abitudini alimentari nei due anni precedenti alla diagnosi.**
- I risultati non dimostrarono alcun legame tra il consumo di dolcificanti artificiali e il rischio di insorgenza dei tumori citati.

Recenti studi epidemiologici

- Un recente studio di coorte condotto dalla Harvard University (Schernhammer ES, 2012) ha esaminato i rischi di sviluppare linfomi o leucemie e ha evidenziato un aumento del rischio di linfoma non-Hodgkin e mielomi multipli nei maschi che consumavano più di una porzione (355 ml) al giorno di bevande dolcificate artificialmente e nei gran consumatori di aspartame (come dolcificante da tavolo e nelle bevande), rispetto ai non consumatori
- Studio epidemiologico più lungo in assoluto poiché durato ben 22 anni (1984-2006). Ogni due anni, i partecipanti hanno ricevuto un questionario dettagliato sull'alimentazione, e la loro dieta è stata rivalutata ogni quattro anni.
- Non è stata registrata alcuna associazione significativa nelle donne. Gli autori hanno specificato che a causa delle differenze dei risultati nei due sessi, i risultati devono essere interpretati con cautela

Reazioni agli esperimenti
dell' Istituto Ramazzini

Principali critiche agli studi sull'APM dell'Istituto Ramazzini (I)

Maggiori osservazioni metodologiche sollevate dall'EFSA e risposte dell'IR:

- La questione: elevato numero di animali e osservazione di questi fino a morte spontanea

Risposta IR: tali appocchi metodologici applicati dall'IR aumentano la sensibilità degli studi, particolarmente se consideriamo che la risposta carcinogenica può dipendere dalla latenza dei tumori che è variabile e può essere superiore alle 110 settimane

- La questione: elevato background di infezioni nella colonia di ratti

Risposta IR: gli animali che muoiono spontaneamente sono soggetti a infezioni patologiche, come negli uomini. Inoltre, in alcuni studi dell'IR che prevedevano sacrifici interimali, le infezioni respiratorie non erano elevate anche in caso di sacrificio a 130-140 settimane

Principali critiche agli studi sull'APM dell'Istituto Ramazzini (II)

Maggiori osservazioni metodologiche sollevate dall'EFSA e risposte dell'IR:

- III questione: i linfomi sono indotti dalla presenza di infezioni

Risposta IR: dalla revisione delle diagnosi di linfomi e leucemie (L/L) nei diversi studi di cancerogenesi dell'IR, si evince che pochi di essi hanno rilevato un aumento di L/L, suggerendo perciò che tali patologie sono correlate all'agente esaminato

- IV questione: i tumori del fegato e del polmone nei topi Swiss sono irrilevanti per il risk assessment (EFSA, 2011)

Risposta IR: L'asserzione dell'EFSA è, a nostro parere, scientificamente inaccettabile

Principali critiche agli studi sull'APM dell'Istituto Ramazzini (III)

Maggiori osservazioni metodologiche sollevate dall'EFSA e risposte dell'IR:

- V questione: correttezza delle diagnosi di L/L

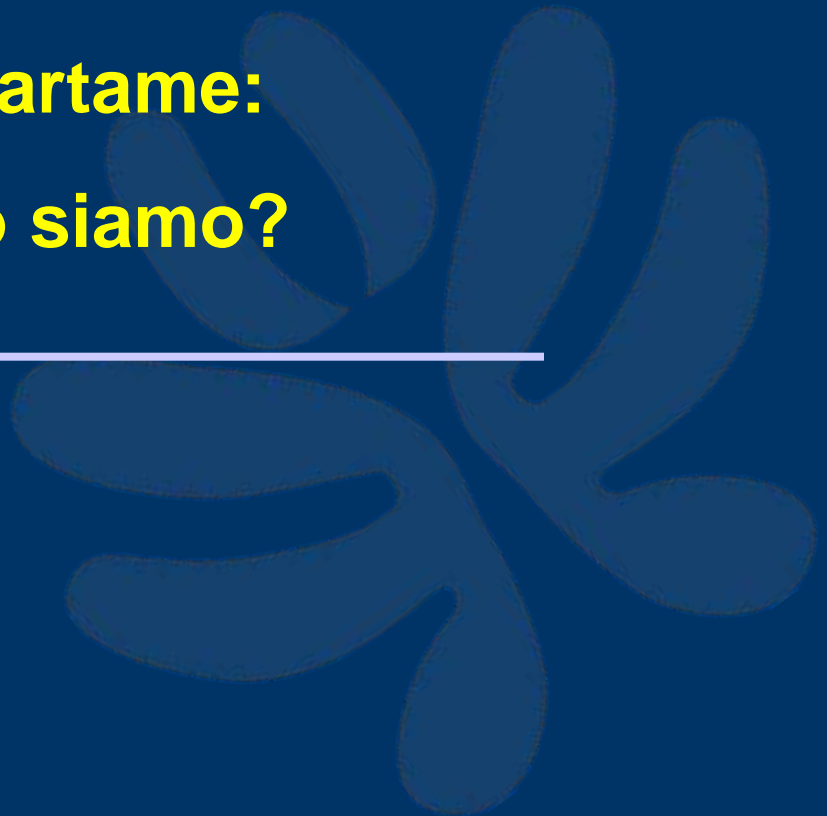
Risposta IR: sono in discussione alcune diagnosi di L/L, specialmente a livello dei polmoni (PWG NTP-EPA, 2011). Le differenze di diagnosi sono state riscontrate solo a livello quantitativo e non qualitativo. Inoltre, anche escludendo i ratti portatori di L/L localizzato nel polmone, il numero totale dei L/L nei gruppi trattati con APM rimane comunque statisticamente significativo (Tabella 1).

Table 1. Long-term carcinogenicity bioassays on ASPARTAME, administered with feed from prenatal life until death, to male (M) Sprague-Dawley rats (Experiment BT6009):statistical reanalysis of hematopoietic neoplasms (HN)

Group Concentration (ppm)	Animals		All animals bearing HN ^a		All animals bearing HN excluding the rats with lymphoma localized only in the lung ^b	
	Sex	No.	No	%	No	%
I (0) control	F	95	12	12.6 **	9	9.5 **
II (400)	F	70	12	17.1	10	14.3
III (2.000)	F	70	22	31.4 **	22	31.4 **

^a All animals with hematopoietic neoplasms (HN) affecting one site or multiple sites
^b All animals with HN with the exclusion of rats with lymphoma localized only in the lung
 ** Statistically significant (p ≤0.01) using Cox Regression Model
 ** Near the control incidence are the p-values (p≤ 0.01) associated with the Cox Regression Model for analysis of the trend

**Il caso aspartame:
a che punto siamo?**



Conclusioni del progetto integrato sull'APM dell'IR

- APM è un agente cancerogeno multipotente nei ratti maschi e femmine.
- Quando l'APM viene somministrato a partire dalla vita fetale per tutta la vita, gli effetti cancerogeni aumentano.
- I dati preliminari dopo 116 settimane di età dimostrano che l'esposizione all'APM per tutta la vita, a partire dalla vita fetale, induce un aumento nell'incidenza di HCC e LAS nei topi Swiss.

La posizione dell'EFSA

- Sin dal 2002 l'EFSA ha sottoposto a costante monitoraggio la sicurezza dell'aspartame e i suoi gruppi di esperti scientifici hanno emanato vari pareri in merito a studi apparsi sul dolcificante
- Nel **dicembre 2013 l'EFSA** ha pubblicato la sua prima, completa valutazione del rischio associato all'aspartame. **Nel parere si conclude che l'aspartame e i suoi prodotti di degradazione sono sicuri per la popolazione in generale** (compresi i neonati, i bambini e le donne in gravidanza).
- **L'attuale dose giornaliera accettabile (DGA) di 40mg/kg di peso corporeo/die è ritenuta protettiva della popolazione generale**

La posizione dell'Istituto Ramazzini (I)

- Rimaniamo nella convinzione che l'APM sia un cancerogeno per l'uomo, poiché con il nostro modello sperimentale si è dimostrato cancerogeno per due specie animali, ratto e topo, e per diversi organi bersaglio; questo è anche il criterio che viene adottato dalla Agenzia Internazionale di Ricerca sul cancro dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per classificare le sostanze cancerogene.
- Oltre ai nostri risultati, non sono stati presi in considerazione da EFSA anche altri importanti studi epidemiologici:
 - Schernhammer et al 2012: esposizione ad APM e aumento dell'incidenza di linfomi e leucemie
 - Andreatta et al 2008: esposizione ad APM ed aumento dei tumori dell'apparato urinario

La posizione dell'Istituto Ramazzini (II)

- Da parte nostra, intendiamo rispondere ad EFSA con un approccio scientifico e qualificante:
- 1. I nostri tre esperimenti sull'aspartame, due su ratti ed uno sui topi, verranno rivalutati dal punto di vista statistico;
- 2. si procederà con la caratterizzazione delle lesioni classificate come linfomi del polmone (le uniche che hanno suscitato controversie);
- 3. nel 2015-2016 verrà convocato un Pathology Working Group Internazionale per la revisione di tutti i tumori maligni da noi diagnosticati nei tre esperimenti.

Qualunque sia il risultato, noi avremo risposto con la scienza ad un quesito scientifico, non con le commissioni di esperti; e, forse, l'intero processo costerà meno di quanto siano costati gli esperti di EFSA."

Fiorella Belpoggi

Direttrice, Centro di Ricerca sul Cancro Cesare Maltoni
Istituto Ramazzini



Istituto Ramazzini
COOPERATIVA SOCIALE ONLUS

Raccomandazioni (1/2)

Sulla base di quanto osservato sperimentalmente:

- 1) un'indagine epidemiologica dovrebbe essere condotta sui consumatori di APM, in particolare i bambini, e sui lavoratori del settore.
- 2) le agenzie proposte dovrebbero assumere un ruolo più attivo.

Raccomandazioni (2/2)

- 3) la IARC dovrebbe porre all'ordine del giorno il riesame degli studi disponibili sui dolcificanti artificiali e in particolare l'APM.
- 4) nel frattempo, dovrebbe essere applicato il principio di precauzione, soprattutto per proteggere le fasce di popolazione più vulnerabili, in particolare bambini e donne in gravidanza.

Istituto Nazionale per lo studio e il Controllo dei Tumori e delle Malattie Ambientali "B. Ramazzini"

***Lo staff di
Bentivoglio***



Grazie per l'attenzione!