

IL RISCHIO DI TUMORI PUÒ AUMENTARE CON LE MISCELE

IL PROGETTO HALIFAX HA CERCATO DI FAR LUCE SULLE MISCELE AMBIENTALI, IN CUI COESISTONO COMPOSTI CHIMICI CON MECCANISMI E MODI D'AZIONE DIVERSI, PRESENTI A CONCENTRAZIONI BASSE. CONFERMATA L'INTERAZIONE IPOTIZZATA, SONO STATE POSTE LE BASI CONOSCITIVE PER REALIZZARE STUDI PIÙ MIRATI E APPROFONDITI.

Quante volte abbiamo ripetuto l'assioma di Paracelso: è la dose che fa il veleno? La tossicologia classica parte da questo semplice concetto: la risposta individuale di un organismo aumenta proporzionalmente alla dose di esposizione. Il concetto di dose-risposta è una delle colonne portanti della valutazione del rischio da esposizione. Sulla base di questa relazione è possibile calcolare una dose soglia, al di sotto della quale il rischio di patologie o disabilità legate a quella specifica esposizione può ritenersi infinitesimale. L'individuazione di una dose soglia ha una grande rilevanza in tossicologia regolatoria, perché costituisce la base per l'identificazione dei limiti accettabili di esposizione giornaliera. Negli ultimi anni il concetto di dose soglia, la validità del concetto di linearità tra dose applicata e effetto ottenuto, e le modalità con cui tali relazioni sono studiate e utilizzate nelle pratiche di valutazione e stima del rischio, sono state al centro di discussioni scientifiche nella comunità internazionale che hanno portato a rivedere e implementare le strategie alla base delle valutazioni di pericolosità delle sostanze chimiche. È bene ricordare, infatti, che, generalmente, la dose soglia è ricavata dai dati sperimentali ottenuti negli studi sugli animali, esposti o trattati con dosi e concentrazioni che spesso eccedono i livelli di esposizione umana. Il livello di dose sperimentale a cui non si rilevano effetti avversi è calcolato per ogni singola sostanza chimica e abbattuto di un fattore da 10 a 1000 per estrapolare il dato sperimentale all'uomo. L'esposizione umana, infatti, avviene a dosi molto più basse di quelle sperimentali e gli effetti che ne derivano sono variazioni biologiche che spesso hanno un significato adattativo, l'organismo esposto "si adatta" a quell'esposizione e la contiene.

Sappiamo, però, ancora troppo poco su ciò che accade quando singoli composti chimici a basse dosi si trovano

contemporaneamente in una miscela e quali siano gli effetti che un'esposizione multipla, a basse dosi, determina sull'organismo vivente.

Come abbiamo avuto modo di raccontare in altre occasioni, è difficile predire la pericolosità di una miscela complessa basandosi solo sulla sua composizione e sulle conoscenze relative alla pericolosità delle singole componenti. I composti chimici in una miscela possono interagire tra loro e gli effetti che ne derivano possono essere il frutto di attività additive, sinergiche o persino antagoniste. Diversi studi recenti hanno dimostrato che gli stessi composti possono avere comportamenti diversi in miscela rispetto ai meccanismi che mostrano quando sono studiati singolarmente. Molti composti presenti nell'ambiente non mostrano curve dose-risposta lineari alle basse dosi e possono indurre effetti profondamente diversi rispetto a quelli indotti alle dosi più alte.

Nel numero 1/2014 di *Ecoscienza* avevamo parlato del progetto Halifax, varato a giugno del 2013, il cui titolo *Getting to know cancer* era esemplificativo degli obiettivi: conoscere il cancro, capire come l'ambiente interagisca con l'uomo e perché questo si traduce in un tumore. Il progetto Halifax ha cercato di far luce sulle miscele ambientali, in cui coesistono tanti composti chimici con meccanismi e modi d'azione diversi, presenti a concentrazioni basse. Due anni dopo, il gruppo di 174 scienziati internazionali che hanno partecipato al progetto, ha varato le prime conclusioni raccolte in 11 articoli scientifici, pubblicati dalla prestigiosa rivista *Carcinogenesis*, in un numero speciale dedicato al Progetto Halifax. L'attenzione è stata rivolta ai dieci tratti biologici del tumore, dieci passi che un tessuto deve compiere perché un tumore si manifesti, cresca, diventi maligno e invasivo: lo sviluppo di uno stato di infiammazione, l'evasione dal controllo del sistema immunitario, l'instabilità genetica, la perdita del



controllo della crescita cellulare, la proliferazione di cellule trasformate, l'acquisizione di un proprio sistema di vasi sanguigni (angiogenesi), l'alterazione dei meccanismi di senescenza, la deregolazione del metabolismo, la compartecipazione del microambiente circostante, l'acquisizione di caratteristiche invasive e metastatiche. Si ritiene che i composti chimici che siano in grado di alterare anche una sola di queste caratteristiche debba essere considerato un potenziale cancerogeno, ma perché un tumore si manifesti bisogna che tutti i 10 passi siano compiuti. Cosa succede, dunque, se 10 composti chimici diversi, ognuno in grado di alterare una caratteristica, colpiscono lo stesso tessuto contemporaneamente? Il tumore si forma più in fretta? Cresce e prolifera più velocemente? Sfugge a ogni controllo su una strada di non ritorno? Oppure l'organismo vivente e, in particolare, l'uomo ha tali e tanti meccanismi di difesa e di controllo che l'evento tumorale resta, comunque, quello che per fortuna è, un evento raro? Il progetto Halifax si è dato il compito di rispondere a queste domande. Ha scelto per ogni tratto biologico, dieci

diversi composti che, sulla base della letteratura scientifica, è stato possibile identificare come induttori di alterazioni associate al tumore. Sono stati analizzati 100 composti per 100 alterazioni nei 10 tratti biologici del tumore. I dati sono stati incrociati per rilevare interazioni tra composti e alterazioni. Ogni interazione è stata marcata da un gene che risultava modificato e la cui modificazione risultava importante per segnare i passi del tumore. Un intreccio di trama e ordito, per tessere la tela della conoscenza del tumore. I risultati confermano le ipotesi iniziali e mostrano

come una miscela complessa in cui siano co-presenti composti cancerogeni e non-cancerogeni può indurre effetti amplificati che facilitano l'insorgenza del tumore. Va però tenuto conto che lo sforzo del Progetto Halifax è stato quello di porre le basi conoscitive su cui far fiorire studi più mirati e approfonditi sulle reali miscele ambientali, per analizzarne il comportamento con gli strumenti più avanzati inclusi nelle nuove strategie di valutazione della pericolosità e del *risk assessment*. L'esempio da seguire è stato tracciato dai progetti Monitor e Supersito, due progetti in cui le

miscele ambientali sono state analizzate direttamente, a dosi che riflettono realisticamente l'esposizione umana, e i cui effetti sono stati messi in luce con l'utilizzo di strumenti definiti di *high-throughput*, quali le tecnologie omiche, che consentono l'analisi contemporanea dell'intero genoma umano e delle molteplici interazioni che sostengono i passi del tumore.

Annamaria Colacci

Arpae Emilia-Romagna

I RISULTATI DEL PROGETTO HALIFAX

NUOVE EVIDENZE SULLA RELAZIONE TRA TUMORI ED ESPOSIZIONE A BASSE DOSI DI MISCELE DI SOSTANZE CHIMICHE

Confrontandosi con un aumento globale delle malattie tumorali, la Ong "Getting to Know Cancer", con il progetto Halifax, ha costituito una *task force* composta da 174 scienziati di istituzioni di rilievo provenienti da 28 paesi per affrontare il problema del legame tra miscele di sostanze chimiche comunemente riscontrate e lo sviluppo del cancro. Della *task force* fa parte anche Annamaria Colacci, responsabile del Centro tematico regionale Tossicologia ambientale di Arpae Emilia-Romagna, coadiuvata da Monica Vaccari, responsabile dell'area di Tossicologia sperimentale.

Tra le migliaia di sostanze chimiche a cui la popolazione è ormai regolarmente esposta, gli scienziati ne hanno selezionate 85 prototipiche che non sono classificate come cancerogene per l'uomo e ne hanno esaminato gli effetti rispetto a una lunga lista di meccanismi che sono importanti per lo sviluppo di tumori. Lavorando in gruppi che si sono concentrati su diversi caratteri biologici (*hallmark*) tipici dei tumori, gli scienziati hanno scoperto che 50 di quelle sostanze sono compatibili con meccanismi chiave collegati all'insorgenza del cancro a livelli di esposizione ambientale rilevanti. Ciò dà sostegno all'ipotesi che le sostanze chimiche possano essere in grado di agire in concerto tra di loro per causare il cancro, anche se bassi livelli di esposizione a tali sostanze, individualmente, potrebbero non essere cancerogeni. "Siccome così tante sostanze chimiche con cui entriamo inevitabilmente in contatto nell'ambiente possono produrre effetti a basse dosi direttamente collegati allo sviluppo di tumori, il modo con cui finora abbiamo testato le sostanze chimiche (una alla volta) è davvero obsoleto. Ogni giorno siamo esposti a un 'minestrone di sostanze chimiche', perciò abbiamo bisogno di test che valutino gli effetti dell'esposizione in corso a queste miscele" afferma William Goodson III, scienziato *senior* al California Pacific Medical Center di San Francisco. Goodson è l'autore principale della sintesi che è appena stata pubblicata (insieme con il lavoro di supporto di ciascuno dei gruppi) in un numero speciale di *Carcinogenesis* intitolato "Assessing the Carcinogenic Potential of Low Dose Exposures to Chemical Mixtures in the Environment" (Volume 36, Supplement 1, June 2015).

Questa è la prima volta che questo problema di larga scala è stato affrontato da gruppi interdisciplinari che hanno potuto interpretare a pieno l'intero spettro della biologia tumorale e includere le attuali conoscenze sugli effetti di basse dosi di sostanze chimiche. Alla luce di tali prove, la *task force* sta richiedendo maggiore attenzione e sostegno per la ricerca sulle esposizioni a basse dosi di miscele di sostanze chimiche presenti nell'ambiente.

"Si tratta di un'area che merita una grande attenzione e in cui una collaborazione interdisciplinare e internazionale è necessaria", afferma David Carpenter, uno dei partecipanti al progetto e

direttore dell'Istituto per la salute e l'ambiente dell'Università di Albany, nello stato di New York (un centro che collabora con l'Organizzazione mondiale della sanità). "La scienza in questo campo - aggiunge - sta cambiando rapidamente. Anche se sappiamo molto sugli effetti delle singole sostanze chimiche, sappiamo molto poco sugli effetti combinati e additivi delle molte sostanze che incontriamo ogni giorno nell'aria, nell'acqua e nel cibo".

Stime attuali dicono che fino a un tumore ogni cinque potrebbe essere dovuto all'esposizione a sostanze chimiche presenti nell'ambiente, non correlate allo stile di vita personale. Perciò gli effetti dell'esposizione a miscele di sostanze chimiche che si incontrano comunemente devono essere meglio compresi, se vogliamo sperare di ridurre l'incidenza delle malattie tumorali.

"È stata un'esperienza interessantissima - racconta Annamaria Colacci di Arpae Emilia-Romagna - che ho potuto apprezzare in tutta la sua complessità, visto che sono stata chiamata a far parte del 'Validation team', il gruppo di coordinamento per la valutazione e la validazione dei dati proposti dai 10 team, ognuno focalizzato su un tratto biologico del tumore. Abbiamo verificato 850 interazioni tra molecole chimiche e bersagli molecolari, abbiamo partecipato attivamente alla stesura di tutti gli articoli scientifici prodotti dal progetto Halifax, in particolare durante la fase di revisione, in cui è stata utile la nostra esperienza sulle miscele ambientali e sugli effetti alle basse dosi. Abbiamo, inoltre, contribuito all'identificazione delle relazioni dose-risposta e al disegno della curva degli effetti dei composti prescelti, insieme all'Agenzia ambientale degli Stati Uniti (Us-Epa) e alla Divisione di tossicologia Regolatoria del Ministero della salute del Canada. Non a caso questo ultimo aspetto è stato trattato da tre organizzazioni governative che attivamente si occupano di ambiente e salute".

"Arpae - continua Colacci - ha giocato un ruolo di rilievo, grazie anche alle esperienze del progetto Monitor e, soprattutto, Supersito, progetti che hanno affrontato il problema delle basse dosi delle esposizioni ambientali e hanno tracciato una strada innovativa. La comunità scientifica internazionale è già all'opera nell'identificare nuove e più appropriate strategie per testare i composti chimici e le miscele complesse, oltre che per valutare gli effetti sui tratti biologici tumorali. Anche a questo processo Arpae partecipa attivamente contribuendo all'attività dell'Ocse-Oecd in tema di *testing strategy* e di *integrated approach*. C'è però bisogno del massimo sostegno sia di chi è deputato all'identificazione delle priorità dei temi scientifici da supportare finanziariamente, sia da parte di chi è chiamato al processo decisionale. Comprendere tutti i passaggi che dall'esposizione portano alla patologia, consentirebbe non solo di prevenire, ma anche di intervenire più precocemente e curare con maggiore successo".