

STUDIARE LE PATOLOGIE AMBIENTALI CON OCCHI DIVERSI

IL PROGRESSO DELLA SCIENZA CI MOSTRA I LIMITI DEGLI STRUMENTI ATTUALI PER LA PREDIZIONE DEGLI EFFETTI SULLA SALUTE DI MISCELE DI INQUINANTI. IL PROGETTO INTERNAZIONALE HALIFAX MIRA A UNIRE CONOSCENZE BIOLOGICHE E MEDICHE PER COMPRENDERE L'EFFETTO DEGLI INQUINANTI AMBIENTALI NELL'INSORGENZA DI TUMORI.

Chi segue questa rivista, sa che spesso è stato affrontato il problema delle miscele complesse e delle esposizioni multiple.

Predire gli effetti sulla salute, non solo dell'uomo, ma anche dell'ambiente, di una miscela di inquinanti, è possibile solo se si conoscono tutte le componenti e se di ognuna di esse è chiaro il meccanismo di azione. Di quasi ogni sostanza presente nell'ambiente, sia essa di origine antropica o naturale, è ormai noto il profilo tossicologico. Per ognuna di esse, singolarmente, è possibile predire l'effetto anche per esposizioni a lungo termine. Tuttavia, se il progredire della scienza e il progresso tecnologico ci consentono di affinare sempre di più sia la possibilità di definire la pericolosità di una sostanza sia di monitorarne la presenza nell'ambiente, è proprio l'acquisizione di nuove conoscenze che ci mostra i limiti degli strumenti di cui attualmente disponiamo per la predizione del rischio aggregato, cioè quello derivante dall'esposizione a un singolo inquinante presente in più matrici, e del rischio cumulativo, determinato da più inquinanti diversi in una singola matrice.

Ci sono alcuni approcci che cercano di superare questi limiti, quali ad esempio l'uso dei metodi alternativi, che includono test *in vitro* e modelli struttura-attività, coadiuvati dall'uso delle tecnologie della tossicogenomica, integrati nella tossicologia computazionale, che abbina lo studio sperimentale delle tossine e la simulazione assistita da calcolatore e identifica le reazioni chimiche tra tossine e costituenti dell'organismo, come proteine ed enzimi, sfruttando il potenziale del computer. Sono approcci sofisticati, resi possibili dal progresso tecnologico, meno costosi e lunghi dei test sugli animali, utili, dunque, per analizzare molte molecole in più miscele, ma anche utilizzare i molti dati pre-esistenti, anche da test su animali, migliorandone il potere predittivo e facilitando l'estrapolazione del dato sperimentale all'esposizione umana.

Esposizione ambientale e insorgenza delle patologie

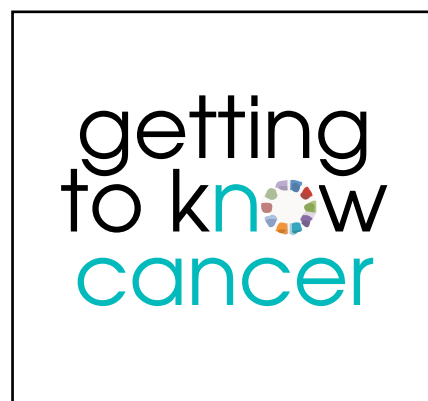
I primi risultati da questi tipi di approcci mostrano che è possibile operare una predizione di rischio basata su molecole strutturalmente simili, o quanto meno con simile meccanismo d'azione, che contemporaneamente presenti determinano un effetto additivo su uno stesso bersaglio.

Tuttavia, le malattie che originano dalle esposizioni ambientali sono l'effetto di una intricata rete di reazioni che comprende più percorsi e più bersagli. I meccanismi di controllo e di difesa dell'organismo nei riguardi degli xenobiotici, le molecole che vengono ritenute estranee, sono tali che solo il danno operato a più livelli, esteso e indirizzato a bersagli molecolari chiave, può tramutarsi in una patologia cronico-degenerativa. Molti di questi meccanismi di difesa sono anche frutto di processi evolutivi e di adattamento alla presenza di molti inquinanti, naturalmente presenti nell'ambiente e del tutto indistinguibili da quelli prodotti dalle attività antropiche.

Anche quei composti, definiti genotossici, che arrivano direttamente al cuore della cellula e inducono un danno diretto sul Dna, quei composti per i quali è impossibile definire una dose soglia al di sotto della quale non ci sia l'effetto indesiderato, non sono in grado con un solo evento di sostenere l'intero processo di insorgenza e progressione della malattia.

Una patologia legata a una esposizione ambientale è il frutto, dunque, di fattori che sono in grado di annientare questi meccanismi, operando contemporaneamente su più fronti e superando quello che potremmo definire un limite di sopportazione del nostro organismo (*body burden*).

Una miscela complessa in una esposizione ambientale e, ancora di più,



diverse miscele complesse presenti in più matrici ambientali, potrebbero innescare una serie di eventi simultanei o in cascata che determinano la condizione necessaria e sufficiente per l'insorgenza di una patologia.

È questo vero per tutte le patologie? Per molti anni si è discusso del paradigma delle malattie cronico-degenerative, quella chiave di volta comune alle patologie cardiovascolari, tumorali, neurodegenerative, dismetaboliche, quell'unico evento comune, in grado di innescare una catena di eventi con esiti diversi, ma, comunque, gravi.

Oggi sappiamo che tutte queste patologie possono avere una causa ambientale e che stessi inquinanti possono giocare un ruolo fondamentale in ognuna di esse, quegli stessi inquinanti che nelle esposizioni transplacentali possono influenzare negativamente le fasi e gli esiti della gravidanza o lo sviluppo del feto, o più subdolamente predisporre al rischio di contrarre nella vita adulta, con maggiore frequenza e precocità quelle stesse patologie osservate per esposizione diretta agli inquinanti di individui adulti. Se identificare la radice comune rappresenta una sfida con un obiettivo che sembra essere ancora molto lontano da raggiungere, la possibilità di studiare la fitta e intricata rete di eventi tra essi interrelati è offerta dalla identificazione di caratteristiche comuni a più patologie.

La patologia tumorale è quella che maggiormente si presta a rappresentare la complessità di quanto finora detto. Il tumore è l'esito di una serie di eventi concatenati: danni genetici non più riparabili e che si accumulano, rendendo la cellula maggiormente incline a commettere errori durante la replicazione (instabilità genetica), uno stato infiammatorio che tende a cronicizzarsi creando le condizioni per l'alterazione dello stato tissutale (promozione dell'infiammazione), il metabolismo alterato come conseguenza della produzione di proteine funzionali errate (deregolamentazione del metabolismo), la possibilità di sfuggire alla sorveglianza immunitaria (elusione del sistema immunitario), una crescita cellulare disorganizzata e incontrollabile determinata da una parte dall'induzione di stimoli proliferativi dall'altra dalla perdita di controllo del ciclo replicativo e dalla incapacità di innescare meccanismi di morte programmata per le cellule alterate (sostentamento dei segnali proliferativi, elusione dei segnali che sopprimono la crescita, resistenza alla morte cellulare), la capacità di costruire la propria rete di vasi sanguigni per sostenere l'incremento di richiesta di fonti energetiche (angiogenesi) fino all'acquisizione di uno stato di immortalità replicativa e delle caratteristiche maligne che consentono l'invasione dei tessuti adiacenti e la colonizzazione di organi lontani (invasione e metastasi). Tutti questi eventi sono ritenuti essere i tratti distintivi (*hallmarks*) del tumore, una catena di avvenimenti che segnano il cammino multifasico che da una cellula alterata porta al tumore maligno e metastatico. Eravamo finora abituati a vederli come tappe di un processo lento e cadenzato e in qualche modo lineare, reversibile nelle prime fasi, controllabile fintanto che le cellule trasformate non si rendessero indipendenti dal tessuto normale circostante, e acquisissero una completa autonomia di crescita.

Il Progetto Halifax

Oggi guardiamo con occhi diversi alla complessità della patologia tumorale, che ci appare come un intreccio di eventi, tra loro correlati, quasi concatenati, come nell'affascinante spiegazione che ne viene

data paragonando gli *hallmarks* tumorali alle componenti *yin-yang* dell'organismo, dove l'effetto tumorale (*yang*) indotto dalla componente infiammatoria iniziale prevale sulle proprietà tumoricide (*yin*) del sistema immunitario e ci interroghiamo se attacchi contemporanei possano accelerare il processo tumorale, facendo prevalere l'effetto *yang* e accorciando i tempi in cui la crescita diventa incontrollabile. Questa è la grande sfida lanciata dal *Progetto Halifax* (www.gettingtoknowcancer.org), una iniziativa che ha chiamato a raccolta ricercatori di tutto il mondo per tessere la tela delle conoscenze della biologia e della storia naturale del tumore e incrociarle con le conoscenze sul meccanismo d'azione degli inquinanti ambientali.

Il progetto rovescia la prospettiva di studio, non partendo dallo studio delle interazioni fra inquinanti diversi per cercare di capire la potenza di una miscela complessa, ma cercando di comprendere, in base alle conoscenze per ogni singolo composto e del suo ruolo nel contribuire all'acquisizione di uno o più tratti distintivi del tumore, se la simultanea presenza di più inquinanti, con meccanismi d'azione diversi, possano contemporaneamente agire su più di un bersaglio, determinando, anche a basse dosi, un incremento della risposta. Il progetto, iniziato meno di un anno fa, ha già prodotto una notevole mole di dati, che sono stati incrociati tra loro per evidenziarne punti comuni e punti di snodo nella mappa di conoscenza

del tumore. Una sfida nella sfida, il progetto porta nel suo motto l'obiettivo da raggiungere, "*Getting to know cancer*": arrivare a conoscere e capire, per prevenire, prima ancora di curare.

William Bisson¹, Annamaria Colacci²

1. Oregon State University (Usa), coordinatore Validation Team del Progetto Halifax
2. Arpa Emilia-Romagna, membro del Validation Team del Progetto Halifax

CHI È WILLIAM BISSON

William Bisson è dal 2012 Assistant Professor nel dipartimento di *Environmental and Molecular Toxicology, Environmental Health Sciences Center and Center for Genome Research and Biocomputing* dell'Oregon State University (Usa). La sua ricerca combina studi di chimica genomica computazionale e sperimentali per la scoperta di nuovi agenti terapeutici o di prevenzione nel cancro. Consegue nel 1999 la Laurea in Chimica all'Università di Padova e nel 2003 il dottorato al Politecnico federale (ETH) di Zurigo. Dal 2004 si trasferisce negli Stati Uniti per il suo post-dottorato. Nel 2010 torna in Svizzera come ricercatore avanzato all'Università di Ginevra, dove nel Dipartimento di scienze farmaceutiche diventa responsabile della chimica computazionale in diversi progetti di ricerca sul cancro. Nel marzo 2013 viene selezionato membro e capo di uno dei team internazionali facenti parte del Progetto Halifax.



1 Il Validation Team del Progetto Halifax.

IL PROGETTO HALIFAX

DUE SFIDE PER LA SCIENZA: COMPRENDERE I TUMORI E CURARLI CON STRUMENTI NUOVI

INTERVISTA



Leroy Lowe
Presidente e cofondatore
"Getting to know cancer"

Che cos'è il Progetto Halifax?

È un progetto di ricerca coordinato da un'organizzazione non governativa che coinvolge più di 350 ricercatori provenienti da 30 paesi per lavorare su due problemi che rappresentano altrettante sfide: il primo problema è affrontato da una *task force* di 12 gruppi interfunzionali, concentrati sul possibile effetto cancerogeno delle miscele complesse formate da composti comunemente riscontrati nell'ambiente. Oggi ci si concentra sull'identificazione di composti singoli che siano cancerogeni "completi", ma le conquiste della scienza che si occupa di tumori ci hanno già dimostrato che il tumore è il risultato di una serie di eventi chiave che possono essere scatenati indipendentemente. Allo stesso tempo, sappiamo che molti composti possono avere effetti sorprendentemente potenti alle basse dosi. Questa *task force*, dunque, sta studiando la possibilità degli effetti che le esposizioni a basse dosi a composti ambientali possa contribuire all'elevata incidenza di tumore che la nostra società si trova ad affrontare. Anche la seconda *task force* è formata da 12 gruppi interfunzionali, concentrati sullo sviluppo di uno schema terapeutico ad ampio spettro per il tumore. Le chemioterapie di cui disponiamo oggi o uccidono le cellule con farmaci tossici o fermano la malattia con farmaci che colpiscono uno o due bersagli cellulari, ma tutti i tumori, di qualunque tipo, possono sviluppare una grande varietà di cellule tumorali mutate e immortalizzate, così che sono frequenti sottopopolazioni cellulari che sono resistenti a entrambi gli approcci terapeutici. Per superare questo problema, sono state messe a punto forme di chemioterapia combinata che si rivolgono a bersagli multipli, ma la tossicità associata a queste terapie impedisce di trattare più di un numero limitato di bersagli. Questa *task force*, dunque, sulla base delle più recenti scoperte, sta disegnando un approccio non tossico,

a largo spettro, che può agire su più bersagli prioritari simultaneamente. Se questo particolare approccio avrà successo ci consentirà di prevenire il tumore nei pazienti ad alto rischio, integrare i trattamenti standard e prolungare il tempo di sopravvivenza di pazienti che sono ad alto rischio di ricaduta.

I risultati del progetto saranno pubblicati su due numeri speciali di due riviste scientifiche con alto fattore di impatto e con sistema di refereraggio (*Carcinogenesis* edita da Oxford e *Seminars in Cancer Biology* edita da Elsevier).

Quando ha iniziato a ideare questo progetto?

Le morti per tumore nella mia stessa famiglia mi hanno ispirato a comprendere meglio la ricerca portata avanti nel campo dei tumori. Dopo 8 anni di studio ho capito che le due maggiori sfide non erano adeguatamente considerate, principalmente perché la soluzione richiede una conoscenza integrata e molti ricercatori stanno lavorando in compartimenti stagni. Così, nel 2011 ho creato l'organizzazione non governativa "Getting to know cancer" per aiutare una ricerca collaborativa che sia in grado di dare una risposta ai due problemi.

Lei ha coinvolto un largo numero di scienziati in tutto il mondo. Sono rimasta colpita dal numero di paesi che hanno scelto di partecipare al progetto. Questo è lo stesso approccio usato nel Progetto Genoma, che ha cambiato per sempre il modo di usare la biologia molecolare e ha aperto le porte all'era postgenomica?

Non sono sicuro che l'approccio sia esattamente lo stesso, ma questo è un problema di larga scala che richiede tante conoscenze da tanti scienziati che stanno lavorando in differenti aree di studio e, in quanto Ong, abbiamo fondi limitati per consentire che si incontrino per rendere possibile il nostro obiettivo. Così mi sono appellato direttamente ai ricercatori e abbiamo chiesto loro di entrare in contatto per cercare di fare il lavoro di base e aiutarci a inquadrare i due problemi e a chiarire aspetti e sfide. La nostra speranza è che il lavoro che si sta svolgendo e le preoccupazioni della collettività possano portare una maggiore attenzione a entrambi gli aspetti di questa iniziativa e di attrarre l'interesse delle Agenzie più importanti (quelle meglio posizionate per supportare e finanziare il lavoro addizionale che dovremo svolgere per

progredire nella ricerca delle soluzioni a questi problemi).

Il progetto fa un ottimo uso di dati pre-esistenti, già pubblicati. Crede che abbiamo già dati sufficienti e abbiamo solo bisogno di mettere insieme le informazioni e integrare i punti di vista?

Non sono completamente sicuro che abbiamo già tutto quello che ci serve per risolvere entrambi i problemi nella loro interezza. Ma sono sicuramente convinto che abbiamo abbastanza dati per marcare un buon inizio. Dal punto di vista ambientale penso che i ricercatori che si stanno occupando di questo saranno in grado di utilizzare i dati esistenti e le analisi già effettuate per dimostrare nel prossimo futuro che alcune miscele possono essere cancerogene a dosi basse (cioè le dosi rilevanti dal punto di vista ambientale) anche se le singole componenti non sono cancerogene. La nostra valutazione su composti chimici comuni pensati essere sicuri deve essere rivista e bisogna cambiare l'approccio regolatorio a questi composti dal punto di vista della valutazione della sicurezza. Allo stesso modo, dal punto di vista terapeutico, credo che i ricercatori che si occupano di questo aspetto saranno in grado di mostrare presto che è possibile utilizzare una chimica non tossica che tenga conto simultaneamente dei molti aspetti della biologia del tumore (cioè considerando un approccio a largo spettro) e identificare le possibilità di miglioramento terapeutico di gran lunga superiore agli approcci finora usati.

Intervista a cura di Annamaria Colacci, Arpa Emilia-Romagna

CHI È LEROY LOWE

Leroy Lowe è stato Aerospace Engineering Officer nell'Aeronautica militare del Canada, senior manager e consulente aziendale nel settore aerospaziale. Attualmente è college faculty a tempo pieno in International business. Dopo due lutti in famiglia dovuti al cancro, si è concentrato sulla scienza dei tumori e nel 2011 ha lanciato "Getting to know cancer", una Ong supportata da un ampio comitato consultivo composto di scienziati di rilievo. È presidente e cofondatore dell'organizzazione, che ha promosso il Progetto Halifax.