

NUOVE STRATEGIE PER VALUTARE LA PERICOLOSITÀ DEI PESTICIDI

NELLA VALUTAZIONE DELLA PERICOLOSITÀ O EFFICACIA DELLE MOLECOLE CHIMICHE IL PROGETTO GENOMA HA APERTO LA STRADA AL SUPERAMENTO DEGLI ESPERIMENTI SUGLI ANIMALI. UNA PRIMA APPLICAZIONE DEL NUOVO APPROCCIO INTEGRATO PER I TEST E LA VALUTAZIONE È STATA EFFETTUATA SUI PESTICIDI, CHE RAPPRESENTANO UN ESEMPIO PARADIGMATICO DI MOLTE SOSTANZE PRESENTI NEL MERCATO E NELL'AMBIENTE.

L'alba del XXI secolo ha visto un'accelerazione del processo di applicazione dei principi delle 3R. Elaborati nel lontano 1959 dai ricercatori Russell e Burch, i principi delle 3R (*replace, refine, reduce*), auspicavano che gli animali da esperimento avessero un trattamento compassionevole, che gli esperimenti su animali fossero condotti solo quando veramente indispensabili e che il progresso tecnologico fosse applicato ove possibile per diminuire il numero di animali richiesti nei singoli esperimenti e migliorare i protocolli sperimentali, così da ridurre al minimo le sofferenze imposte dai trattamenti sperimentali. In realtà, nei successivi quattro decenni la valutazione della pericolosità o dell'efficacia di tutte le molecole chimiche si è essenzialmente basata sui risultati ottenuti in esperimenti condotti su animali, in prevalenza roditori, ma anche conigli, cani, primati non umani. A segnare l'inizio di un reale ripensamento della strategia sperimentale per la valutazione della tossicità dei composti chimici è stata la rivoluzione nel campo della biologia e delle biotecnologie, seguita a una serie di scoperte, di cui, forse, la vera pietra miliare è rappresentata dal *Progetto Genoma* i cui risultati hanno consentito la comprensione dei genomi degli esseri viventi, non solo in termini descrittivi, ma anche funzionali. Questi studi ci hanno permesso di raggiungere nuove frontiere, di capire come l'ambiente reagisse con il patrimonio genetico degli individui esposti e ci ha fornito gli strumenti per continuare a esplorare l'inesplorato mondo del codice della vita.

Ci sono voluti altri 10 anni perché le prime scoperte e anche le potenti nuove tecnologie trovassero la loro giusta collocazione in un processo organico di integrazione di conoscenze e tecnologie per aprire la strada a un nuovo modo di studiare la tossicità.

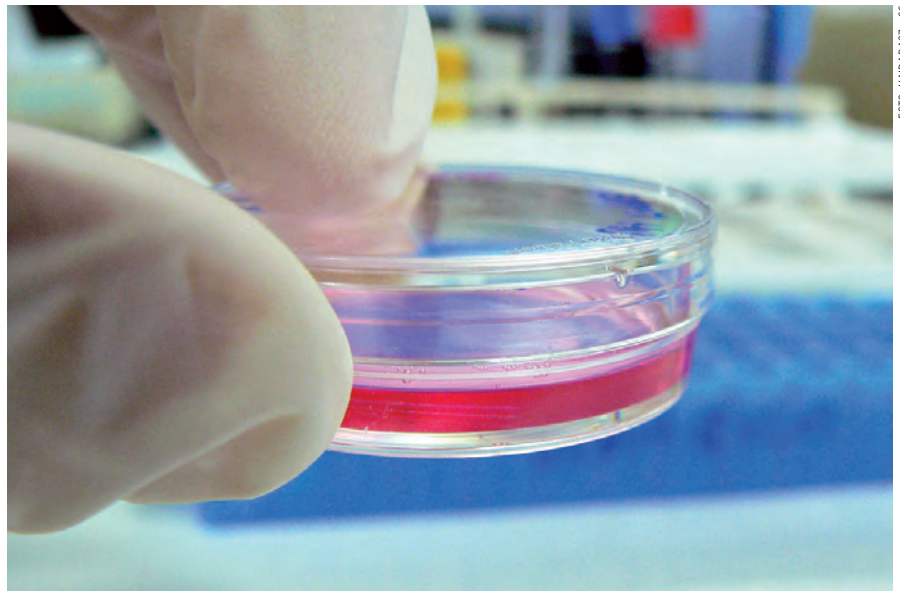


FOTO: KAMBAR87 - CC

Il nuovo concetto di *testing strategy* si basa su un presupposto fondamentale, pur nella sua semplicità: il superamento di una unica batteria di test da applicare in maniera standard a qualunque sostanza per valutarne il profilo tossicologico e l'elaborazione del cosiddetto *Integrated Approach for Testing and Assessment (Iata)*, un approccio integrato per i test e la valutazione, che si basa prima di tutto sulla valutazione dei dati esistenti e l'individuazione delle lacune conoscitive che possono essere colmate con una strategia sperimentale *ad hoc* studiata per quella sostanza o quel gruppo di sostanze. Uno Iata si basa su una moltitudine di strumenti e tecniche per le tante discipline scientifiche e i tanti campi di applicazione.

I nuovi studi sui pesticidi

Il primo esercizio di applicazione di uno Iata è stato condotto sui pesticidi. Un lavoro coordinato dal Canada, con un gruppo di esperti internazionali, nel quadro di riferimento del processo di sviluppo delle linee guida Ocse.

Perché i pesticidi? Perché lo Iata è nato con il preciso scopo di fornire uno strumento decisionale nel campo regolatorio e gli ingredienti attivi dei pesticidi sono tra le molecole più rigorosamente regolate. Dal punto di vista della strategia di valutazione sperimentale, i pesticidi seguono un percorso molto simile a quello previsto per gli studi preclinici dei farmaci e i dati sperimentali vengono utilizzati dai valutatori del rischio per valutare l'impatto sulla salute umana e ambientale e le conseguenze dell'esposizione ai residui nelle derrate alimentari o all'applicazione di queste molecole da parte degli operatori. Il formulato finale, tuttavia, contiene altre molecole, aggiunte per aumentarne la stabilità o migliorarne le proprietà fisico-chimiche. Per tali molecole non sempre c'è disponibilità di dati altrettanto numerosi e informativi quali quelli richiesti per l'ingrediente attivo. I pesticidi rappresentano, dunque, un esempio paradigmatico di molte altre sostanze e formulati chimici presenti nel mercato e nell'ambiente, un mix di

composti per i quali abbiamo sufficienti dati per valutarne appieno la pericolosità e composti per i quali i dati sono insufficienti o mancanti.

Una valutazione effettuata nel 2009, a Regolamento Reach già avviato, stimava che per circa l'89% dei composti chimici utilizzati non si avevano dati sufficienti, un numero elevato di sostanze chimiche da dover testare per soddisfare le necessità imposte dalle nuove normative e regolamenti a tutela della salute dell'uomo e dell'ambiente, un numero di esperimenti che, se condotti con la classica strategia applicata finora, comporterebbe l'utilizzo di un numero di animali da esperimento abnorme. L'esigenza di applicazione della normativa unita allo sviluppo della scienza e della tecnologia hanno supportato l'elaborazione di una diversa strategia che consente il superamento di un approccio tossicologico basato sull'individuazione di un *endpoint* apicale in un animale, quale ad esempio un tumore sviluppato in seguito a una esposizione, e l'individuazione di un approccio integrato basato sui meccanismi d'azione attraverso cui un composto chimico può indurre effetti avversi.

A differenza di un *endpoint* apicale, che può essere specie-specifico e non necessariamente estrapolabile tra specie diverse o rilevante per l'uomo, il meccanismo d'azione è comune a specie diverse e a composti chimici con struttura chimica simile. Un esempio molto semplice è rappresentato dalle diossine e dai composti diossino-simili, analoghi strutturali, tali da riconoscere lo stesso

recettore, un recettore evolutivamente ben conservato in specie diverse, target molecolare specifico ed essenziale a innescare la catena di eventi che porta all'effetto avverso. Questo meccanismo d'azione prescinde dalla specie ed è riproducibile *in vitro*.

Uno Iata si basa, quindi, sull'utilizzo integrato di più strumenti, metodi in silico che consentano di individuare proprietà strutturali comuni (es. QSAR), metodi in vitro che possano riprodurre un meccanismo d'azione, approcci biotecnologici che possano individuare gli eventi principali legati al processo che infine determina l'effetto avverso che si realizza in una popolazione esposta.

Un *endpoint* tossicologico descrive il risultato della interazione fra un agente chimico e l'organismo bersaglio. Un approccio basato sull'identificazione di un modo d'azione o di un processo che porta a un effetto avverso consente, invece, di identificare le basi fisiologiche dell'effetto tossicologico. Nel primo caso noi identifichiamo "cosa" è successo, nel secondo capiamo "come" è successo. L'esercizio di uno Iata applicato ai pesticidi ha consentito di valutare la validità di questo approccio integrato e ha aperto le porte a un nuovo modo di intendere la tossicologia.

Uno Iata può consentire di superare i limiti nella valutazione delle miscele complesse, di cui i pesticidi forniscono un ottimo esempio, per la possibilità di riscontrare la stessa molecola in più matrici alimentari (rischio cumulativo) o più molecole in una sola matrice (rischio aggregato).



Uno Iata può consentire di individuare più modi d'azione e più effetti avversi, per esempio pesticidi con attività ormonosimile, tipica dei distruttori endocrini, che possono condurre a effetti di tossicità riproduttiva o effetti cancerogeni. Anche in questo caso i pesticidi possono diventare paradigmatici di quei composti non genotossici ma capaci di indurre cancerogenesi.

Oggi gli Iata stanno assumendo una importanza sempre più elevata nel contesto di sviluppo delle strategie di valutazione tossicologica. Il modello dello Iata dei pesticidi viene ora elaborato e applicato a differenti contesti tossicologici. Di pari passo sta evolvendo l'elaborazione di un piano di accettabilità dei dati derivati dagli Iata nel contesto regolatorio e decisionale.

Annamaria Colacci

Arpa Emilia-Romagna

