

# LA DOSE SOGLIA ESISTE SEMPRE

GLI STUDI CON L'APPLICAZIONE DELL'INNOVATIVO APPROCCIO DELLA TRASFORMAZIONE HANNO EVIDENZIATO L'ESISTENZA DI UNA DOSE SOGLIA PER L'INSORGENZA DI EFFETTI AVVERSI CANCEROGENI PERSINO PER GLI INQUINANTI CHE NE ERANO RITENUTI PRIVI, COME GLI IPA.

**“I**n this article the authors investigate the molecular steps that occur in the *in vitro* cell transformation assay (CTA) offering a quite provocative picture of the transformation process. [...] Interestingly, these events are not purely connected with genotoxicity. This type of investigation is timely and needed to support the regulatory implementation of the CTA and the increasing call for alternative approaches to assess potential carcinogenicity of substances. [...] Overall, this manuscript represents an important piece of research towards the understanding of the underlying mechanisms of cell transformation, which is worth pursuing in the future”.

Con questo lusinghiero giudizio del reviewer e dell'editor della rivista scientifica *Carcinogenesis* veniva accettato un articolo che, per la prima volta, abbatteva il tabù dell'assenza di dose soglia per i cancerogeni. Nelle tante volte in cui dalle pagine di questa rivista abbiamo affrontato il discorso della dose soglia, abbiamo sempre sostenuto che fosse possibile identificare una dose, per quanto piccola, al di sotto della quale non ci sono effetti avversi. Lo avevamo già dimostrato utilizzando dati di letteratura per sviluppare un modello di calcolo di una dose soglia a livello molecolare, definita Notel (*No observed transcriptional effect level*) [1]. Abbiamo sempre ritenuto che, pur nell'incertezza del calcolo e della stima che ogni approccio statistico porta con sé, i dati sperimentali potessero mettere in luce la differenza sostanziale nell'esposizione tra la risposta adattativa e difensiva e la risposta legata all'insorgenza all'effetto avverso. Si trattava solo di dare conferma scientifica a evidenze oggettive che apparivano dai risultati ottenuti nei progetti Monitor e Supersito, dove i campioni ambientali, rappresentativi di un'esposizione reale, non inducevano gli effetti avversi da sempre imputati agli inquinanti più rappresentativi in essi presenti, quali gli idrocarburi policiclici aromatici (Ipa), se non quando questi fossero presenti in concentrazione elevata. Gli Ipa sono stati sempre considerati cancerogeni genotossici, composti in grado di indurre un danno diretto al Dna (mutazione) senza una dose soglia.

Questa proprietà veniva ritenuta l'evento iniziante del tumore. In sintesi, una cellula avrebbe sempre e, comunque, riportato un danno se esposta agli Ipa, e in caso di eventi concomitanti, sarebbe stata solo questione di tempo e il tumore si sarebbe prima o poi manifestato. Nel 2015, tuttavia, in occasione dell'avvio dei lavori del gruppo di esperti dell'Ocse per sviluppare un approccio integrato per la valutazione (Iata, *Integrated Approach for Testing and Assessment*) della cancerogenesi non-genotossica, sostenuta cioè da composti che inducono tumore attraverso meccanismi diversi dalla mutazione, abbiamo proposto di sviluppare un nuovo test, basato sull'utilizzo di nuove tecnologie che potesse mettere in evidenza questi meccanismi e definire una dose soglia. Il percorso è stato complesso, ma siamo stati affiancati dai rappresentanti all'Ocse di Regno Unito e Austria, che hanno creduto che potessimo raggiungere l'obiettivo che ci eravamo proposti e, come sempre accade nell'affascinante mondo della ricerca e, soprattutto, nel campo della ricerca applicata, i risultati sono andati oltre le ipotesi contemplate. *The transformics assay* (in italiano il test di trasformica) è stato sviluppato nei nostri laboratori e accolto con grande entusiasmo da Eurl-Ecvam, l'organismo della Commissione europea deputato a convalidare i nuovi test *in vitro* [2] ed è stato ufficialmente presentato al gruppo di lavoro in Ocse perché diventi parte integrante Iata per la cancerogenesi non genotossica. E, con la prima applicazione di questo test, abbiamo ottenuto il risultato più eclatante che potessimo aspettarci: l'individuazione di una dose soglia persino per i composti che ne erano ritenuti privi. Sulla base dei risultati ottenuti, abbiamo descritto un nuovo meccanismo, o forse dovremmo dire il *vero* meccanismo, per i composti policiclici aromatici e dimostrato scientificamente che una dose soglia esiste sempre e che gli effetti avversi, come quello del tumore legato all'esposizione di Ipa, si realizzano solo quando questa dose è abbondantemente superata. L'approccio integrato della trasformica ci ha consentito di individuare tutte le tappe che portano alla trasformazione cellulare *in vitro*, di capire che alle basse dosi si innescano



meccanismi di difesa e adattamento che portano all'eliminazione del composto, mentre alle dosi alte si avvia un processo che porta al danno genetico, un evento chiave, ma secondario a eventi più precoci che costituiscono un buon bersaglio per interventi di prevenzione dei rischi per la salute.

La dose-soglia, dunque, esiste. Non è un mito, né un artefatto di laboratorio o un derivato di un approccio matematico. Continueremo a lavorare per confermare oltre ogni ragionevole dubbio questa prima evidenza scientifica.

*L'articolo "The Transformics Assay: First steps for the development of an integrated approach to investigate the malignant cell transformation in vitro" di Mascolo et al. è stato pubblicato in "Carcinogenesis" in pre-print e con procedura accelerata il 15 marzo 2018 ed è disponibile in open-access al link [https://academic.oup.com/journals/pages/open\\_access](https://academic.oup.com/journals/pages/open_access)*

## Annamaria Colacci

Responsabile Centro tematico regionale Tossicologia ambientale e Ambiente e salute, Arpa Emilia-Romagna

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

[1] Quercioli D., Roli A., Morandi E., Perdichizzi S., Polacchini L., Rotondo F., Vaccari M., Villani M., Serra R., Colacci A., "The use of omics-based approaches in regulatory toxicology: an alternative approach to assess the no observed transcriptional effect level", *Microchem. J.*, 136: 143-148 2018 (epub February 9, 2017).

[2] Corvi R., Madia F., Guyton K.Z., Kasper P., Rudel R., Colacci A., Kleinjans J., Jennings P., "Moving forward in carcinogenicity assessment. Report on an Eurl Ecvam Estiv workshop", *Toxicol in Vitro*, 45: 278-286, 2017.