

# RUOLO DELL'AMBIENTE E PATOLOGIA TIROIDEA

L'AUMENTO DELLE PATOLOGIE DELLA TIROIDE HANNO SPINTO LA RICERCA SANITARIA VERSO L'INDAGINE DELLA RELAZIONE TRA INQUINAMENTO AMBIENTALE E SALUTE DELLA GHIANDOLA. È NECESSARIO STUDIARE E COMPRENDERE QUALI SOSTANZE E QUALI MECCANISMI CHIMICO-BIOLOGICI POSSONO ESSERE CONSIDERATI AGONISTI O ANTAGONISTI DELLA TIROIDE.

**L**a tiroide è una ghiandola situata alla base del collo e il suo ruolo è quello di sintetizzare e secernere la tiroxina (T4) e la triiodotironina (T3), che controllano numerose funzioni metaboliche, agiscono sullo sviluppo del sistema nervoso centrale e consentono l'accrescimento dell'organismo. Le funzioni della tiroide sono finemente regolate dal sistema nervoso, in particolare dalla più importante area di interconnessione tra sistema nervoso ed endocrino, l'asse ipotalamo-ipofisi, attraverso il rilascio dell'ormone tireotropina (Trh) e tireostimolante (Tsh), con un meccanismo detto a *feedback* negativo. Il raggiungimento della concentrazione ottimale comporta il blocco di un ulteriore rilascio dell'ormone.

Esistono prove scientifiche, ormai certe, che le sostanze chimiche, inclusi molti inquinanti ambientali, possono interagire con l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, e anche con il meccanismo di controllo locale degli ormoni tiroidei negli organi bersaglio.

La valutazione dell'impatto delle sostanze chimiche sull'asse tiroideo richiede una strategia complessa, poiché le sostanze chimiche possono perturbare la segnalazione, la biosintesi, il metabolismo, il trasporto e l'escrezione degli ormoni tiroidei attraverso una serie di interazioni diverse a livello molecolare, oltre al legame con i recettori Tr, che possono influenzare la loro azione. Questo è un vero e proprio meccanismo di interferenza endocrina, meno conosciuto e studiato dei meccanismi correlati all'azione degli ormoni estrogenici, soprattutto per la mancanza di test adeguati in grado di identificare gli interferenti o distruttori endocrini tiroidei.

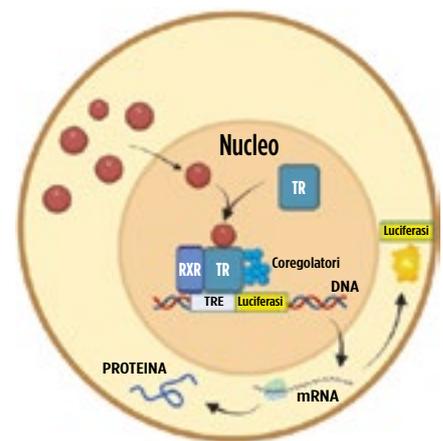
I distruttori endocrini (*endocrine disrupting chemicals*, Edc) sono sostanze o miscele di sostanze che possono alterare gli equilibri o modificare le normali vie di segnalazione degli ormoni dell'organismo

## PRESENTAZIONE DELLA RELATRICE

Il ruolo dell'ambiente nella patologia tiroidea è ancora poco conosciuto. Il disastro di Chernobyl, nel 1986, aprì un filone di studio e ricerche sul ruolo delle radiazioni ionizzanti sul tumore della tiroide e, per molto tempo, è stato vivo il dibattito se l'aumento delle patologie benigne della tiroide, negli anni immediatamente successivi, fosse effettivamente correlato al *fallout* nucleare o all'aumentata capacità diagnostica tramite ecografia. La maggiore comprensione dei meccanismi di interferenza e distruzione del sistema endocrino da parte di molte sostanze diffuse nell'ambiente hanno permesso di rilevare come i fattori ambientali siano determinanti anche per le patologie della tiroide. Ai tumori e alle formazioni non neoplastiche o preneoplastiche, si sono aggiunte le malattie autoimmuni della tiroide. Tra i molti contaminanti chimici, gli organoclorurati alogeni e i pesticidi influenzano variabilmente la funzione tiroidea. I bifenili policlorurati e i loro metaboliti e gli etere di polibromodifenile si legano alle proteine di trasporto tiroidee, come la transtiretina, spostano la tiroxina e disturbano la funzione tiroidea. Per ridurre il rischio per la popolazione è necessario, dunque, comprendere l'associazione tra agenti ambientali e disfunzione tiroidea. Il lavoro qui presentato segna una tappa fondamentale nello sviluppo di strumenti specifici che riescano a discriminare le sostanze chimiche che hanno la tiroide come bersaglio.

**Annamaria Colacci**  
Arpae e Università degli studi di Bologna

che sono responsabili dello sviluppo, del comportamento, della fertilità e del mantenimento dell'omeostasi cellulare. Queste sostanze sono presenti in tutte le matrici ambientali, dunque l'esposizione risulta essere multipla e cronica. In più le aree industrializzate sono caratterizzate da un'immissione in ambiente di una grande varietà e quantità di sostanze chimiche che possono contaminare suolo e acque, entrando, così, nella catena alimentare. Gli Edc, inoltre, possono essere trasportati dall'aria e dai corsi d'acqua anche molto lontano dalla fonte originaria e alcuni di questi hanno caratteristiche di persistenza in ambiente, per cui, anche se vietati da decenni,



**FIG. 1 TRβ CALUX**  
Meccanismo d'azione.  
Immagine creata con Biorender



**FIG. 2 PROCESSO**  
Protocollo sperimentale TRβ-Calux Assay.



l'uomo e gli animali risentono ancora oggi degli effetti dell'uso improprio fatto nel passato e del conseguente accumulo ambientale.

L'aumento delle patologie tiroidee, sia patologie autoimmuni sia tumorali, inclusi i noduli di natura benigna, ha posto l'attenzione sulla necessità di sviluppare e convalidare test affidabili per l'identificazione degli Edc tiroidei.

### L'impegno dell'Unione europea per l'ambiente e salute

L'approccio tradizionale, negli studi tossicologici, anche per la valutazione di interferenza endocrina dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, può prevedere l'utilizzo di modelli animali, quindi studi in vivo. Tuttavia, questi test sono costosi, richiedono tempo e un elevato numero di animali.

Negli ultimi venti anni, la comunità scientifica si è aperta sempre più alla possibilità di analizzare le molecole in studio con Nam (*new approach methodologies*), in grado di fornire informazioni sul pericolo e sul rischio chimico senza l'uso di animali. Con il regolamento (Ce) 1907/2006, Reach (*registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals*), l'Ue ha ribadito l'importanza dei Nam e ha allestito un sistema di registrazione richiedendo un'accurata caratterizzazione del profilo tossicologico delle sostanze e dei loro meccanismi d'azione. Ma ancora oggi, per molti *endpoint*, non esistono linee guida Oecd che consentano di rilevare in vitro l'azione di alterazione del sistema endocrino indotta da contaminanti ambientali e più in generale da sostanze chimiche.

In questo contesto, lo studio di convalida della tiroide (*Thyroid validation study*, Tvs), coordinato da Jrc-Ecvam e condotto nei laboratori di riferimento della commissione per i Nam (rete Eu-

Netval), si inserisce per dare una risposta a questa lacuna informativa sugli effetti dei distruttori endocrini a vari livelli del sistema tiroideo.

Questo studio è stato concepito per una valutazione simultanea di 18 metodi, scelti tra gli 8 blocchi di interazione del sistema tiroideo identificati dal documento di *scoping* dell'Oecd. Nel laboratorio di riferimento Eu-Netval Vitrox di Arpa Emilia-Romagna è stato sviluppato il protocollo di convalidazione del test TRβ-Calux.

TRβ-Calux è uno dei test scelti dal blocco *cellular responses*. È un saggio che utilizza il sistema Calux® della Biodetective system. È una linea di osteosarcoma umano osteoblastico trasfettata in modo stabile con un plasmide per esprimere i recettori tiroidei TRβ. Le cellule sono state inoltre trasfettate con un costrutto reporter contenente un gene per la luciferasi legato a due copie di *thyroid hormone response elements* (Tre) e contengono un plasmide che conferisce resistenza alla genetica.

Il test, infatti, valuta le risposte basate su Tre innescate dall'attivazione di TRβ che agisce come fattore di trascrizione. Questa attivazione, quindi, induce la trascrizione dei geni correlati a T3 e conseguentemente quella dei geni che codificano per la luciferasi la cui quantificazione avviene attraverso una lettura di luminescenza.

Il test valuta sia un'eventuale attività agonista che antagonista, e non solo delle singole sostanze chimiche ma anche quelle di miscele complesse.

Il saggio di agonismo è stato condotto utilizzando come sostanza di riferimento il ligando endogeno T3 mentre per il saggio di antagonismo è stato utilizzato il diclazuril (disciolto in terreno di coltura contenente T3), sostanza nota per avere attività antagonista su TRβ.

In base ai risultati ottenuti, questo test sembra avere un alto potenziale per l'identificazione di sostanze



FIG. 3 CELLULE  
Cellule TRβ-Calux al microscopio

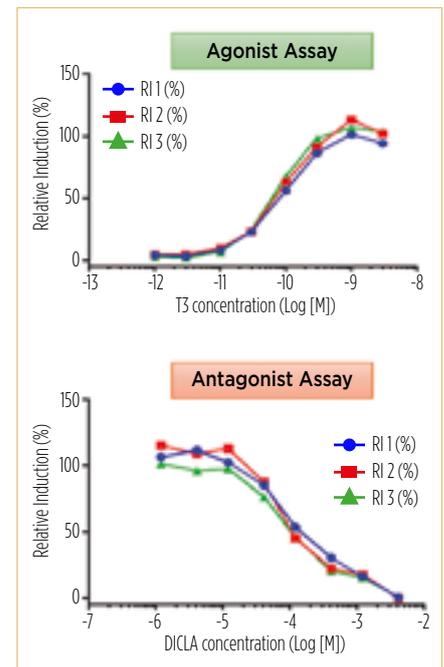


FIG. 4 CURVE LOGARITMICHE  
Esempio di andamento di curve logaritmiche della luminescenza di agonist e antagonist assay.

alteranti il sistema tiroideo e quindi molto qualificato per l'eventuale standardizzazione come già avvenuto per altri sistemi come Er-Calux e Ar-Calux, per i distruttori endocrini dei meccanismi estrogenici e androgenici. Bisogna sempre perseguire lo sviluppo di nuovi metodi affidabili e convalidati, e quindi, di solidi dati analitici in diverse aree dell'analisi tossicologica e l'applicazione di strategie innovative, in grado di colmare le lacune conoscitive in merito ai distruttori endocrini e informare i decisori per permettere una migliore politica gestionale sulla valutazione dei rischi.

**Giangabriele Maffei**

Alma Mater Institute on Healthy Planet,  
Università degli studi di Bologna