

Pietro Apostoli, Giuseppe De Palma, Matteo Paganelli

Valori di riferimento: dai valori guida all'esposoma

Dipartimento Specialità Medico-Chirurgiche, Scienze Radiologiche e Sanità Pubblica, Medicina del Lavoro e Igiene Industriale, Brescia

RIASSUNTO. La corrispondenza tra diversi biomarcatori e le progressive fasi dell'interazione tra tossici e organismo umano è stata da tempo compiutamente descritta da una mappa concettuale elaborata dal National Research Council americano che disegna un sistema di biomarcatori utili ad orientare decisioni cliniche e preventive in Medicina occupazionale e ambientale.

I valori di riferimento, introdotti in chimica clinica e poi passati alla tossicologia occupazionale sono collocabili al primo posto tra i parametri per l'interpretazione di dati tossicologici annoverandosi tra i mezzi di definizione della dose interna in un sistema articolato con livelli d'azione e valori limite. L'esposomica, campo di ricerca recentemente aperto nel contesto delle "omics", a sua volta potrebbe consentire la costruzione di una mappa della totalità delle esposizioni dell'individuo, disegnata da indicatori di dose interna. L'evoluzione omica della ricerca sulle esposizioni segna così un passaggio metodologico. In questo contesto la mappa del National Research Council continua ad essere attuale: l'esposomica può intendersi infatti quale derivazione ed evoluzione del concetto di valori di riferimento-valori guida nello studio di indicatori di dose interna, l'adduttomica quale progresso nello studio di marcatori di dose al bersaglio e di suscettibilità individuale così come l'epigenetica per gli indicatori di effetto precoce.

Parole chiave: biomarcatori, esposizione, medicina occupazionale.

ABSTRACT. REFERENCE VALUES: FROM GUIDANCE VALUES TO THE EXPOSOME. *The correspondence between biomarkers and the complex interaction of toxics with the human organism has been fully described years ago by the American National Research Council which developed a precious diagram. This model is still valid in describing the new methodologic agnostic or "omic" approaches to the science of exposure. Reference values and exposome share indeed the search for internal dose biomarkers; adductomics may be seen as an evolution of the target dose markers while epigenetics itself is a new way of exploring the world of early effect biomarkers.*

Key words: biomarkers, exposure, occupational medicine.

Introduzione

Il National Research Council ha sviluppato fin dal 1987 una classificazione dei marcatori biologici che disegna un sistema dei valori guida, essenziali per orientare decisioni cliniche e preventive in Medicina del Lavoro (1) (Fig. 1). I marcatori sono schematicamente suddivisi in tre categorie: biomarcatori di esposizione (xenobiotico, suo metabolita o prodotto dell'interazione con molecole target a livello dell'organo bersaglio), di effetto (alterazione biochimica o fisiologica, misurabile e reversibile, a carico dell'organo bersaglio), di suscettibilità (che esprimono un'individuale limitata capacità dell'organismo, acquisita o congenita, nella risposta biologica all'esposizione ad uno specifico xenobiotico).

Tale spettro di indicatori ripercorre il continuum di alterazioni (per la maggior parte degli xenobiotici ancora euristico) che segnano il percorso dall'esposizione ad agenti patogeni esogeni allo sviluppo di alterazioni patologiche. I valori di riferimento, messi a punto negli anni '70 in ambito chimico clinico e fatti propri dalla tossicologia occupazionale solo in anni recenti, si collocano al primo posto. La nuova declinazione omica della scienza delle esposizioni, l'esposomica, può a nostro avviso intendersi quale derivazione ed evoluzione del concetto di valori di riferimento avendo per intendimento quello di costruire una mappa della totalità delle esposizioni dell'individuo, disegnata proprio da indicatori di dose interna.

Esposizione e dose interna: i valori di riferimento

Lo studio delle esposizioni attraverso indicatori di dose interna (xenobiotici o loro metaboliti contenuti nelle matrici biologiche) ha trovato momento fondamentale nell'elaborazione dei valori di riferimento, strumento indispensabile per l'interpretazione delle misure di parametri biologici. I valori di riferimento (VR) hanno rappresentato fin dall'inizio un'inevitabile alternativa ai valori normali: il VR di uno xenobiotico o di un suo metabolita è definito come il valore ricavato dalla elaborazione dei risultati del suo dosaggio in campioni biologici prelevati da una popolazione di riferimento con caratteristiche note; a tale valore ci si "riferisce" per interpretare i risultati delle deter-

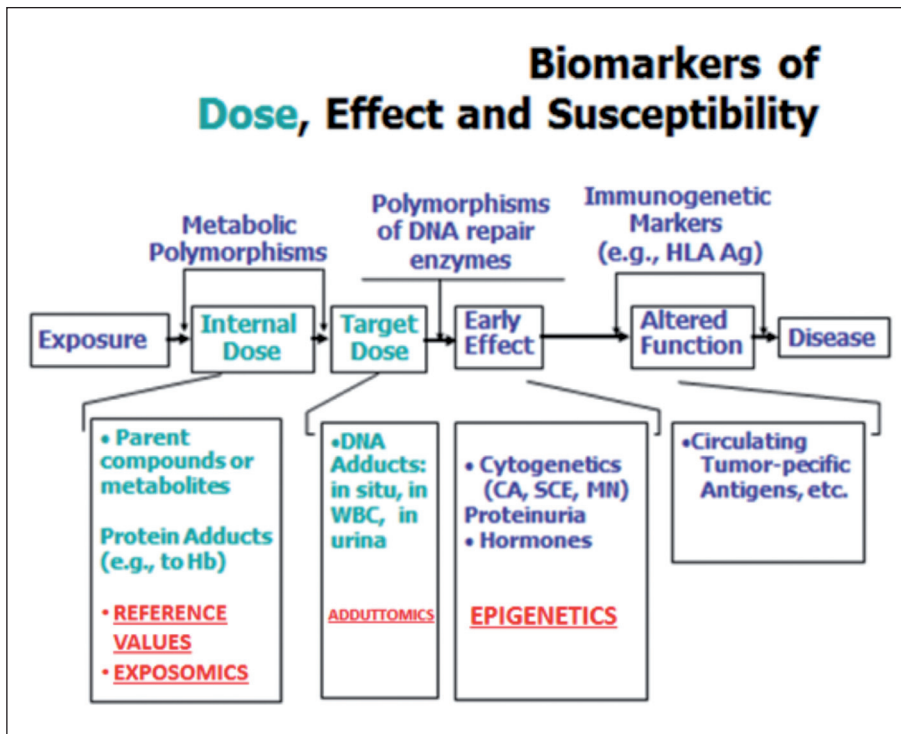


Figura 1. Nello schema (modificato) pubblicato dal National Research Council nel 1987 si illustra la corrispondenza tra biomarcatori e interazione con organismi viventi

minazioni dello stesso analita in individui o gruppi di individui esposti o potenzialmente esposti (2). I VR si sviluppano e vengono formalizzati compiutamente negli anni '70-'80 del secolo scorso in chimica clinica; nelle discipline preventive trovano prime applicazioni in alcune aree tossicologiche, in particolare in tossicologia dei metalli (3). La ricerca nell'ambito della definizione di VR tossicologici ha avuto luogo in modo più sistematico nel nostro Paese ove agli inizi degli anni '90 venne fondata la SIVR, Società Italiana valori di riferimento che ad oggi ha prodotto e aggiornato tre liste di VR per elementi metallici e composti organici-loro metaboliti (4-9).

Solo a fine anni 90 avviene un loro pieno riconoscimento internazionale, in USA (con l'evoluzione dello studio NHANES) (10) e in altri paesi europei, tra cui la Germania (11).

Infine è proprio nel nostro Paese ed in Europa che si arriva alla loro integrazione nel sistema di coordinate definito dei "valori guida" con livelli d'azione e valori limite (5) per poter rispondere al requisito principe del monitoraggio biologico del confronto dei dati incogniti con "opportuni riferimenti" (12). Il fine è quello di avere con immediatezza una duplice informazione sull'esistenza di esposizione a xenobiotici e informazione su indicatori a scavalco tra esposizione, effetto precoce e ipersuscettibilità.

Esposizione e indicatori di dose al bersaglio e di effetto precoce

Gli indicatori di dose al bersaglio sono biomarcatori di dose biologicamente efficace e dovrebbero riflettere un'informazione diversa dagli indicatori di dose interna

indicando la dose vera, cioè la frazione di xenobiotico biologicamente attiva, in grado di interagire con il loro target cellulare o subcellulare. Tra questi un ruolo di rilievo hanno sempre avuto gli addotti agli acidi nucleici ed alle proteine. Dallo studio di questi analiti è possibile ricavare allo stesso tempo informazioni sulla dose interna e sulla suscettibilità dell'individuo ad esempio ad effetti genotossici. L'interpretazione di questi dati è però notevolmente più complessa in quanto presuppone la conoscenza di relazioni dose-risposta/dose-effetto spesso ancora carenti. Anche la misura di tali analiti in laboratorio costituisce una vera e propria sfida: per gli addotti al DNA ad esempio la dimostrazione di uno xenobiotico nella matrice cellulare non necessariamente dimostra il suo legame con l'acido nucleico, ma spesso

la sola associazione. Tra i principali problemi inoltre vi sono la scarsa specificità della maggior parte degli addotti e la variabilità inter-individuale tra i soggetti dovuta sia ai polimorfismi che influenzano il metabolismo di numerose sostanze, sia ad abitudini voluttuarie o a co-esposizioni che possono costituire fattori di confondimento molto difficili da controllare (13).

L'epigenetica (14, 15), studio della modulazione dell'espressione genica (prevalentemente mediante metilazione) in risposta a diverse condizioni ambientali è compiutamente compresa nel modello proposto dal National Research Council (1): essa si può infatti correttamente inquadrare tra i marcatori di effetto precoce.

Esposoma: i valori di riferimento al tempo delle omics?

L'approccio "omico" sposta l'angolo di visuale del metodo scientifico focalizzando la raccolta di dati che successivamente vengono messi statisticamente in relazione tra loro: è l'approccio agnostico o "top-down" (14). Questo metodo applicato alla scienza delle esposizioni ha dato origine alla formulazione dell'esposoma, che consiste nella decodifica delle molteplici esposizioni cui un individuo va incontro dal concepimento in avanti entrando così in rapporto con altri "omics" (trascrittomica, proteomica, epigenomica).

Il termine "esposoma" è stato coniato nel 2005 da Christopher Wild, attuale direttore dell'agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) (15) Lo sviluppo dell'idea di esposoma è nato dall'intento di richiamare l'attenzione della comunità scientifica internazionale sull'importanza dello studio delle esposizioni ambientali ed oc-

cupazionali all'indomani della decodifica del genoma umano enfatizzando il ruolo dello studio dell'esposizione all'interno delle "omics" (16).

Dalla formulazione dell'idea di esposoma, nei primi anni 2000, si avanza oggi verso la sua sempre più ampia formalizzazione mediante studi promossi e condotti da prestigiosi centri di ricerca europei (17-22).

Discussione

Il rapporto tra ricerca dei valori di riferimento degli xenobiotici ed esposoma pare a noi articolato e complesso. È corretto affermare che c'è un'area di sovrapposizione tra i due approcci: la definizione dei valori di riferimento infatti, così come la decodifica dell'esposoma, muove dalla misura della dose interna di tossici cui la popolazione è esposta. Lo studio dei valori di riferimento, inoltre, si può configurare come elemento da cui partire per lo sviluppo dell'esposomica condividendo tra l'altro con essa un approccio di tipo trasversale.

Una volta decodificato l'esposoma infatti sarà teoricamente possibile mettere in relazione diversi livelli di esposizione ad agenti esogeni con l'espressione genica e quindi con il trascrittoma ed il proteoma, passando per l'adduttoma.

Una volta completato in questo modo il corpus esposomico quindi, sarà possibile non solo formulare a partire dall'esposoma valori di riferimento i per tossici e xenobiotici, ma anche conoscere per ciascun livello di dose interna/dose biologicamente efficace i corrispondenti cambiamenti molecolari e cellulari, fino ad eventuali effetti patologici precoci o manifesti, ottenendo una mappa completa dei marcatori che, per una esposizione, portano dagli stadi preclinici alla comparsa di patologia.

Bibliografia

- 1) Biological markers in environmental health research. Committee on Biological Markers of the National Research Council. *Environmental Health Perspectives* 1987; 74: 3-9.
- 2) Sunderman F William. Current concepts of "normal values", "reference values" and "discrimination values" in clinical chemistry. *1975; 1873-1877.*
- 3) Vesterberg O, Alessio L, Brune D, Gerhardsson L, Herber R, Kazantzis G, Nordberg GF, Sabbioni E. International project for producing reference values for concentrations of trace elements in human blood and urine—TRACY. *Scand J Work Environ Health* 1993; 19 Suppl 1: 19-26.
- 4) Apostoli P. Criteria for the definition of reference values for toxic metals. *Science of the total environment* 1992; 120, 1-2: 23-37.
- 5) Apostoli P, Minoia C. I valori di riferimento in medicina occupazionale ed ambientale. *G Ital Med Lav Ergon* 1999; 21(1): 25-39.
- 6) Minoia C, Apostoli P. I^a lista SIVR dei valori di riferimento: definizioni, criteri metodologici e strategie analitiche. *G Ital Med Lav Ergon* 2003; 25(1): 15-21.
- 7) Gräsbeck R. The evolution of the reference value concept. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(7): 692-7.
- 8) Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó JM, Hyltoft Petersen P. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clin Chem Lab Med* 2013 Jan; 51(1): 47-64.
- 9) Aprea, Maria Cristina, et al. La metodologia per la definizione dei Valori di Riferimento Biologici in campo ambientale e occupazionale: il contributo della Società Italiana Valori di Riferimento (SIVR). *La Medicina del Lavoro* 2017; 108.2: 138-148.
- 10) <https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/>
- 11) [http://www.umweltbundesamt.de/en/topics/health/assessing-environmentally-related-health-Risks/german-environmental-survey-geres.](http://www.umweltbundesamt.de/en/topics/health/assessing-environmentally-related-health-Risks/german-environmental-survey-geres)
- 12) Berlin A, Yodaiken RE, Logan DC. International seminar on the assessment of toxic agents at the workplace roles of ambient and biological monitoring, Luxembourg, 8-12 December, 1980. Summary report. *Int Arch Occup Environ Health* 1982; 50(2): 197-207.
- 13) Miraglia N, Assennato G, Clonfero E, Fustinoni S, Sannolo N. [Biologically effective dose biomarkers]. *G Ital Med Lav Ergon* 2004 Oct-Dec; 26(4): 298-301.
- 14) Motta V, Bonzini M, Grevendonk L, Iodice S, Bollati V. Epigenetics applied to epidemiology: investigating environmental factors and lifestyle influence on human health. *Med Lav* 2017 Feb 15; 108(1): 10-23.
- 15) Bollati V, Baccarelli A. Environmental epigenetics. *Heredity (Edinb)*. 2010 Jul; 105(1): 105-12.
- 16) Rappaport SM. Implications of the exposome for exposure science. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 2011; 21.1: 5-9.
- 17) Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2005; 14.8: 1847-1850.
- 18) Wild CP. The exposome: from concept to utility. *International journal of epidemiology* 2012; 41.1: 24-32.
- 19) Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. 2005: 1847-1850.
- 20) Paganelli M, De Palma G, Apostoli P. Esposoma: da intuizione a linea di ricerca obbligata nelle scienze mediche occupazionali e ambientali. *G Ital Med Lav Ergon* 2017; 34(2): 68-71.
- 21) Vineis P, Chadeau-Hyam M, Gmuender H, et al. The exposome in practice: design of the EXPOSOMICS project. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2016.
- 22) Vrijheid M, Slama R, Robinson O, et al. The human early-life exposome (HELIX): project rationale and design. *Environmental health perspectives* 2014; 122.6: 535-544.

Corrispondenza: Matteo Paganelli, U.O. Medicina del Lavoro, Spedali civili di Brescia, P.zze Spedali Civili 1, 25123 Brescia, Italy, Tel. 0303998517, E-mail: m.paganelli002@unibs.it