

Ernesto Burgio



AMBIENTE E SALUTE

Inquinamento, interferenze sul genoma umano
e rischi per la salute



Ernesto Burgio

AMBIENTE E SALUTE

Inquinamento, interferenze sul genoma umano
e rischi per la salute



Tutti i diritti sono riservati. È vietata qualsiasi utilizzazione, totale o parziale, dei contenuti inseriti nel presente volume, ivi inclusa la memorizzazione, riproduzione, rielaborazione, diffusione o distribuzione dei contenuti stessi mediante qualunque piattaforma tecnologica, supporto o rete telematica, senza previa autorizzazione scritta dell'autore Ernesto Burgio erburg@libero.it

Indice

Prefazione

Emanuele Vinci <i>Presidente Ordine dei Medici e degli Odontoiatri di Brindisi</i>	pag. 5
Lorenzo Droandi <i>Presidente Ordine dei Medici e degli Odontoiatri di Arezzo</i>	pag. 7
Roberto Romizi <i>Presidente ISDE Italia</i>	pag. 9

Premessa

Ernesto Burgio <i>Presidente ISDE Scientific Committee</i>	pag. 13
--	---------

Introduzione

Sette parole chiave	pag. 19
Cap. 1 Cosa si dovrebbe intendere per ambiente e salute?	pag. 25
Cap. 2 Inquinamento e trasformazioni ambientali e sanitarie	pag. 35
Cap. 3 Inquinamento ambientale e rivoluzione epidemiologica del XX secolo	pag. 42
Cap. 4 Prolegomena a una medicina evoluzionistica	pag. 45
Cap. 5 Verso un nuovo “paradigma”: dalla genetica, alla genomica, all’epigenetica	pag. 53
Cap. 6 Verso un nuovo “paradigma”: epigenetica e rivoluzione Epidemiologica del XX secolo (parte a)	pag. 55
Cap. 7 Verso un nuovo “paradigma”: epigenetica e rivoluzione Epidemiologica del XX secolo (parte b)	pag. 60

Appendice al capitolo 7

Una condizione di infiammazione subacuta di bassa intensità	pag. 66
Cap. 8 Inquinamento atmosferico: uno spettro si aggira per le città dell’uomo	pag. 68
Cap. 9 Inquinamento e bambini	pag. 91
Cap. 10 La “pandemia silenziosa”: inquinamento e malattie del neurosviluppo e neurodegenerative (parte a)	pag. 95
Cap. 11 La “pandemia silenziosa”: inquinamento e malattie del neurosviluppo e neurodegenerative (parte b)	pag. 103
Cap. 12 Origini ambientali (epigenetiche) della pandemia di obesità e <i>diabesità</i> del XX-XXI sec.	pag. 113

Appendice al capitolo 12

Un cenno al possibile ruolo del microbiota intestinale	pag. 129
Cap. 13 Il caso degli interferenti endocrini: una breve storia drammatica	pag. 131
Cap. 14 Danni da radiazioni ionizzanti (esposizione interna, transplacentare, transgenerazionale)	pag. 137
Cap. 15 Per un nuovo modello di cancerogenesi (ambientale)	pag. 155
Cap. 16 Inquinamento e tumori. Prolegomena alla cancerogenesi chimica	pag. 165
Cap. 17 Il problema dell’incremento dei tumori infantili	pag. 172
Cap. 18 Uomini, genomi, microrganismi e virus	pag. 178
Cap. 19 Abuso e cattivo uso di antibiotici e diffusione dei geni di resistenza. Il più grande esperimento di trasformazione della biosfera	pag. 186
Cap. 20 Allarmi pandemici del terzo millennio	pag. 191

Bibliografia	pag. 201
--------------	----------

PREFAZIONE

Ambiente e salute, professione e sviluppo.

Il legame tra la tutela dell'ambiente e la difesa della salute è ormai indissolubile sia nella consapevolezza di ciascun individuo e di ogni collettività, sia nella comunità scientifica internazionale.

Negli ultimi anni si è assistito ad uno sviluppo esponenziale degli studi sulle interazioni tra ambiente e salute, anche grazie alla costante spinta della comunità scientifica internazionale, che ha richiamato l'attenzione pubblica sugli effetti potenzialmente dannosi derivanti dalle attività antropiche (produzione di energia, gestione dei rifiuti, sistema della mobilità, qualità dell'acqua aria e pratiche agricole, campi elettromagnetici), in particolare sulle ricadute a lungo termine sulla salute, ossia quelle meno evidenti ma più difficili da contenere una volta che si verificano. Tali interazioni ambiente/salute non riguardano solo le varie patologie, acute/ croniche o vecchie/nuove, ma determinano effetti inerenti l'evoluzione e persino la stessa sopravvivenza delle specie viventi, Homo sapiens compreso. È evidenza acquisita che tutte le specie viventi, vegetali e animali, sono il risultato dell'interazione tra il loro specifico genoma e l'ambiente in cui vivono.

In tale contesto si pone la presente monografia "Ambiente e Salute" presentando una significativa documentazione delle più recenti acquisizioni scientifiche, in merito alle correlazioni tra alterazioni ambientali di origine antropica e nuove pandemie di patologie dismetaboliche, oncologiche e neurodegenerative.

Già Ippocrate (r.b.1) aveva affermato: "il cosmo penetra nell'uomo con l'aria, le bevande e con i cibi; sostanze che diventano parte integrante dell'organismo; gli umori di cui questo si compone sono trasformazioni dei cibi e delle bevande ingerite". E dopo più di due millenni Darwin (r.b.2) ribadisce il ruolo determinante dell'ambiente: "le specie vegetali e animali non sono state create indipendentemente, ma si sono evolute nel tempo grazie ad una selezione naturale del più adatto nella lotta per la vita."

Sia Ippocrate che Darwin pubblicarono le loro affermazioni contro le credenze magico-religiose delle loro epoche; la teoria di Darwin in particolare ha minato alla radice la pretesa dell'uomo di essere stato creato "a immagine e somiglianza di Dio" (PG. Odifreddi, r.b. 3).

Le loro affermazioni si basavano solo sull'attenta osservazione della realtà, nella totale assenza di dati biochimici, genetici o principi di base che potessero sostenerle, ed anche in questo sta uno dei segni delle loro geniali osservazioni. Alla riflessione scientifica compete solo l'osservazione dei fatti e le relative teorie, lasciando la verità (o le verità) ai religiosi o ai filosofi.

S J. Gould (r.b. 4) ha più volte chiarito questo aspetto "I fatti sono i dati del mondo. Le teorie sono strutture concettuali, di idee, che spiegano e interpretano i fatti. I fatti non si dissolvono quando gli scienziati dibattono teorie che rivaleggiano nello spiegarli. Gli evoluzionisti hanno sempre ammesso di sapere quanto lontani noi si sia da una completa conoscenza dei meccanismi (la teoria) attraverso i quali l'evoluzione (il fatto) occorre. Darwin ha sempre sottolineato la differenza tra questi due aspetti: da un lato stabilire il fatto evolutivo e dall'altro proporre una teoria, la selezione naturale, per spiegare il meccanismo dell'evoluzione". Non appartiene alla riflessione scientifica considerare l'Ambiente come l'Eden perduto, anzi "sconvolto" dalla presenza e attività dell'uomo, così come ritenuto da coloro che considerano le rivoluzioni agricole e industriali "i peggiori errori della storia del mondo". Senza di questi "errori" forse l'Homo sapiens sarebbe estinto o probabilmente starebbe ancora nelle caverne e la sopravvivenza individuale non avrebbe mai superato i pochi decenni di vita. L'essenza stessa dell'uomo è nella "cono-scienza e nella tecnica", come acquisito dalle scienze psicologiche e dalla riflessione filosofica e come già noto al pensiero greco, che narrava di Prometeo che ruba il fuoco (l'abilità tecnica) agli dei per permettere agli uomini, privi di istinti, di sopravvivere (U. Galimberti r.b. 5). L'uomo che accese il primo fuoco intervenne attivamente sull'ambiente!

Non ha nessun senso, pertanto, parlare di un ambiente senza la presenza attiva e consapevole dell'uomo, senza la coscienza della stretta connessione e interdipendenza tra attività dell'uomo e ambiente, tra sviluppo della scienza/conoscenza e salute/vita/evoluzione dell'Homo sapiens e di tutte le altre specie viventi.

Il problema che oggi si pone è attuare una rigorosa Valutazione dell'Impatto sulla Salute (VIS) di ogni attività antropica, sia di tipo concorrente che retrospettivo e prospettico (FNMCEO r.b. 6)

L'evoluzione dell'umanità è stata marcata dallo sviluppo dell'impresa scientifica: un metodo di pensiero che prevede verifiche, confutazioni autocorrezioni e che è andato costruendosi lentamente. Il progresso della scienza vive sul riconoscimento dall'errore (K. Popper, r.b. 7), nella consapevolezza che gli uomini di scienza si devono limitare alle evidenze, o meglio prove sperimentali, consci che qualsiasi teoria elaborata è destinata ad essere superata. All'interno di questo sistema di pensiero vi sono alcune tappe fondamentali (l'uso del fuoco, l'invenzione della ruota, il Galileo del Sidereus Nuncius), che hanno determinato alcuni cambiamenti radicali non solo nella conoscenza scientifica ma anche in filosofia, scienze morali, sociali, del diritto, economia, antropologia. L'origine delle specie e l'evoluzione per selezione naturale di Darwin è da considerarsi una delle idee che hanno influenzato la storia dell'umanità. (C. A. Redi, r.b. 8).

Negli ultimi decenni il completamento del sequenziamento dei genomi di molte specie e le possibilità tecniche di indagini dei meccanismi molecolari hanno permesso di approfondire la conoscenza di molti fenomeni biologici (dallo sviluppo ontogenetico e filogenetico all'acquisizione delle forme, dai processi fisiologici alle alterazioni patologiche), di trovare tipi di ereditarietà che non sono direttamente legati ai geni (i cosiddetti effetti epigenetici), di applicare nuovi approcci sperimentali, come la biologia evolutiva e dello sviluppo, con la nascita a metà degli anni Novanta di una nuova disciplina Evo-Devo (Evolutionary Development Biology). La presente monografia è un bell'esempio di quanto emerge di nuovo e, inoltre, stimola il confronto e il dibattito scientifico riproponendo anche teorie neolamarckiane. Può essere utile in alcuni contesti rivalutare Lamarck, ovvero la teoria dell'ereditarietà dei caratteri indotti dall'ambiente, non necessariamente in contrapposizione alla teoria darwiniana della selezione naturale. Basti pensare all'evoluzione culturale, che ben meglio è comprensibile su una base di ereditarietà dei caratteri acquisiti (C. A. Redi, r.b.8).

Naturalmente nella scienza tutto va verificato: solo il tempo potrà dire se ci stiamo muovendo verso una vera e significativa espansione dell'impalcatura concettuale alla base della biologia evolutiva o se stiamo semplicemente aggiustando il tiro di alcune diramazioni periferiche della stessa struttura messa a punto da Darwin e dai fautori della Sintesi Moderna. (Massimo Pigliucci r.b. 9).

Alla professione medica tocca l'arduo compito di essere uomini di scienza, aperti alle acquisizioni delle scienze e tecnologie biomediche e pronti a trasferirle nella cura dei pazienti; al contempo essere anche uomini del presente, coscienti che "in un mondo di politeismo dei valori" tocca svolgere anche un compito etico: l'etica della convinzione (cioè dedizione alla causa, la professionalità) e l'etica della responsabilità (tenere sempre presenti le conseguenze delle proprie scelte) (M. Weber r.b. 10).

Emanuele Vinci

Presidente OMCEO Brindisi,

*Coordinatore Gruppo di lavoro "Professione – Ambiente e Salute – Sviluppo Economico"
della Federazione Nazionale Ordini Medici Chirurghi e Odontoiatri*

Riferimenti bibliografici (r.b.) :

1. Ippocrate, "Aforisma" Ed. Newcompt, Roma 1959.
2. C. Darwin, L'origine delle specie. Selezione naturale e lotta per l'esistenza. Ed. Bollati Boringhieri, Torino 2006.
3. PG. Odifreddi, In principio era Darwin, Ed. Longanesi, Milano 2009.
4. S J. Gould, Discover,2,1981.
5. U. Galimberti, Psiche e techne. L'uomo nell'età della tecnica. Ed. Feltrinelli, Milano 1999.
6. FNMCEO, Gruppo di Lavoro su professione, salute e ambiente, salute globale e sviluppo. La Valutazione di impatto sulla Salute (VIS), Roma maggio 2011.
7. K. Popper, Conjectures and Refutations, Ed. Il Mulino, Bologna, 1972.
8. C.A. Redi, Evo-Devo, la nuova frontiera del darwinismo, MicroMega Almanacco di Scienze, Roma 2009.
9. M. Pigliucci, The Evolutionary 16, MicroMega, Almanacco di Scienze, Roma 2009.
10. M. Weber: Il lavoro intellettuale come professione, Ed. Einaudi, Torino 1948.

PREFAZIONE

Le tematiche ambientali sono sempre più attuali, e le cronache nazionali ed internazionali non ci permettono di restare a guardare.

Gli accordi internazionali per la riduzione dell'inquinamento ambientale (protocollo di Kyoto ed altri) e la mancata sottoscrizione di essi da parte di un considerevole numero di Paesi, soprattutto i maggiori inquinatori del pianeta, ci indicano con chiarezza quanto e come dobbiamo lavorare a fondo e con sempre maggiore energia per fare in modo che i decisori, politici e non, comprendano realmente ciò di cui si sta parlando, perché se ne parla tanto, quale valore ha l'ambiente in cui viviamo, quali legami ha l'inquinamento ambientale con la qualità della vita di tutti noi e con le malattie cui andiamo incontro, e soprattutto di quale mondo e quali malattie e quali sofferenze lasceremo ai nostri figli.

La comunità medica aretina ha letto con largo anticipo l'importanza dei temi ambientali, tanto che circa venti anni fa ha dato vita all'associazione dei Medici per l'Ambiente (ISDE), la quale nel tempo ha dimostrato di affrontare gli argomenti in maniera sempre scientifica e scientificamente corretta, al di fuori da ogni schieramento politico e scevra da ogni interesse economico, nel contempo assumendo un importante ruolo di advocacy.

E l'Ordine dei Medici di Arezzo ha creduto in questo progetto, tanto che si è adoperato affinché se ne riconoscesse l'importanza a livello nazionale, ed il Codice di Deontologia Medica (art. 5) recepisce lo stretto legame tra l'essere medico e contemporaneamente cittadino, figure entrambe impegnate per la salute ed il futuro di tutti noi.

Se, dunque, il medico è responsabile due volte, allora la FNOMCeO ed i singoli OMCeO provinciali devono impegnarsi per offrire supporto, in primo luogo formativo, a quel medico. Questo è il principio di fondo, all'interno della strategia complessiva condivisa con FNOMCeO e ISDE Italia, in base al quale è stato organizzato il corso di aggiornamento per referenti ordinistici il 18 gennaio 2013 ad Arezzo, occasione in cui verrà presentata la monografia di Ernesto Burgio.

Lo scenario che la monografia dipinge non è certamente rassicurante, né vuole esserlo. Si tratta invece di un atto di accusa, in qualche modo, su quello che è stato fino ad oggi, e su quali scenari si apriranno nel nostro futuro se non cercheremo di modificare opportunamente le cose. In questo senso, il volume è profondamente preoccupante, ponendo una serie di quesiti ai quali tenta di dare risposte, non sempre con successo. Ma poiché fornisce indicazioni sulle azioni da compiere da oggi in avanti, esso rappresenta anche un vero e proprio inno alla speranza. La situazione locale, nella provincia di Arezzo, è quella che è. Abbiamo l'inceneritore e le centrali a biomasse, ma anche chi ha pensato di ricavare energia dall'idrogeno.

Continuiamo a produrre rifiuti di ogni genere ed in una quantità sempre più elevata, in un territorio nel quale la raccolta differenziata pare non decollare. Abbiamo medici che hanno condotto e stanno conducendo studi di vario genere sulle criticità ambientali che potrebbero conseguire ai cicli produttivi di talune aziende, oppure alla emissione di inquinanti da parte dell'inceneritore e dalle centrali a biomasse in corso di realizzazione. Così, abbiamo potuto verificare direttamente come le amministrazioni locali interessate abbiano subito preso posizione critica nei confronti di questi studi, per motivi non sempre chiari, ma che comunque non tengono conto del principio di precauzione, e sempre pospongono gli interessi di tutela della salute a tutti gli altri, politici, economici, finanziari, industriali e quant'altro.

Allora, pur se parliamo di questioni locali, sembra di esser tornati al discorso iniziale, quello sui protocolli per la riduzione dell'inquinamento ambientale, sulla mancata sottoscrizione di questi da parte dei Paesi maggiormente inquinanti, e via dicendo. Le logiche sembrano le stesse.

È la logica di chi comanda veramente i giochi a livello mondiale, come sempre è stato ma che oggi, con la globalizzazione incombente, cominciano a sembrare un po' più chiari. L'alta finanza, le grandi multinazionali, il potere economico in senso lato vengono sempre anteposti a tutti gli altri interessi, né la politica potrà mai pensare di intervenire in senso virtuoso dal momento che essa stessa è funzionale solo ed esclusivamente a chi detiene il potere politico, sostenuto appunto dal potere economico. Il cerchio è chiuso.

Ecco, io credo che la comunità medica dovrebbe cercar di spezzare questo circolo vizioso, sostenendo con forza il principio di precauzione, per i motivi molti dei quali sono accennati e/o indicati e/o discussi nella monografia. Per raggiungere questo ambizioso ma ineludibile obiettivo, ritengo necessario che il medico/cittadino si faccia promotore di una corrente di pensiero a sua volta in grado di sviluppare una nuova cultura della sicurezza (che in Italia non è mai realmente esistita). Senza questa nuova cultura, non ci saranno speranze di modificare l'atteggiamento dei decisori rispetto ai problemi di cui stiamo discutendo.

Dovremo dunque batterci per modificare la formazione universitaria dei nostri medici, nel senso di introdurre queste tematiche nell'insegnamento ai nostri studenti; ma dovremo batterci per modificare in questa direzione anche i percorsi formativi degli avvocati come dei veterinari, degli infermieri, degli ingegneri, degli architetti, cioè di quelle persone (quindi di tutti) che un domani potranno essere decisori. E prima ancora dovremo analogamente modificare i corsi di studio della scuola primaria e della secondaria. In una sola espressione, dobbiamo fare cultura.

D'altra parte, modificare l'atteggiamento dei decisori attraverso un processo culturale richiede un lavoro profondo e molto esteso nel tempo e la domanda diventa dunque la seguente: letta la presente monografia, avremo il tempo necessario?

Lorenzo Droandi

Presidente Ordine dei Medici e degli Odontoiatri di Arezzo

PREFAZIONE

Ambiente e Salute. Inquinamento, interferenze sul genoma umano e rischi per la salute

L'attuale inarrestabile tendenza verso la globalizzazione ha molteplici ripercussioni sull'organizzazione umana e sugli ecosistemi. Le azioni prodotte in una parte del globo fanno sentire i loro effetti negativi ad enormi distanze e a vari livelli, dall'economia, all'ambiente alla salute. Gli effetti dell'inquinamento ambientale sulla salute umana sono acuti e cronici e riguardano tutto l'organismo. Sono maggiormente esposti gli abitanti degli aggregati urbani e coloro che vivono in prossimità delle strade con intenso traffico motorizzato e degli insediamenti produttivi. Le categorie a più alto rischio sono bambini, anziani e soggetti sofferenti per patologie croniche.

La monografia "*AMBIENTE E SALUTE. Inquinamento, interferenze sul genoma umano e rischi per la salute*" tratta una tematica rivoluzionaria in ambito biomedico che si ispira ad un'idea originaria di Lorenzo Tomatis e che ISDE Italia ha fatto propria.

L'esposizione delle popolazioni a diversi agenti inquinanti chimico-fisici e biologici rappresenta il principale oggetto di studio dell'epidemiologia ambientale. Il target più sensibile degli inquinanti ambientali sono le cellule indifferenziate, quelle cellule cioè in cui sono assenti caratteristiche morfologiche, antigeniche e funzionali che sono invece tipiche delle cellule mature o differenziate. L'esposizione quotidiana di cellule staminali, cellule embrionali e fetali e gameti a quantità anche minime di agenti e fattori esogeni può indurre modificazioni epigenetiche e mutazioni genetiche che sono alla base della trasformazione di una cellula normale in una cellula tumorale. L'attuale espansione "pandemica" di malattie immunomediate (allergie, asma, malattie autoimmuni...), endocrino-metaboliche (obesità, sindrome metabolica, diabete II ecc...), neurodegenerative e neoplastiche potrebbe essere il prodotto di una trasformazione ambientale eccessivamente rapida.

L'incremento di neoplasie infantili connesso, secondo numerosi ricercatori, all'esposizione transplacentare (del feto) e transgenerazionale (dei gameti) ad agenti chimici e fisici in grado di indurre modificazioni epigenetiche e mutazioni genetiche, rappresenta forse l'effetto più esemplificativo e drammatico della trasformazione ambientale in atto e della conseguente alterazione del *programming* embrio-fetale.

Le attuali metodologie di valutazione del rischio epidemiologico e tossicologico non sono sufficienti a comprendere la Rivoluzione epidemiologica in atto. Esiste un nesso tra l'incremento delle patologie neuropsichiche dell'infanzia (autismo, disturbo da deficit dell'attenzione, ritardo mentale, ecc...) e quello delle malattie neurodegenerative dell'adulto? Che legame esiste tra inquinamento atmosferico e incremento di patologie allergiche e immunomediate? C'è un nesso tra la trasformazione dell'ambiente e l'incremento di patologie quali il diabete e l'obesità? Quali sono le attuali evidenze concernenti un'origine precoce (embrio-fetale, infantile o addirittura transgenerazionale) del cancro?

È a queste domande che Ernesto Burgio ha cercato di rispondere con questa monografia.

I *medici* sono i primi testimoni degli effetti che il danno ambientale provoca sulla salute umana. Gli operatori dei Dipartimenti di Prevenzione delle Aziende Sanitarie, tramite la sorveglianza epidemiologica, hanno il compito di raccogliere informazioni e dati sul territorio nazionale, che elaborati consentano la prevenzione, il controllo e la rapida individuazione della comparsa delle malattie animali. In particolare, risulta fondamentale

la predisposizione di piani di sorveglianza, in collaborazione con le autorità sanitarie territoriali e gli istituti consultivi tecnico scientifici, atti a mantenere alta la vigilanza sul territorio, costituendo un sistema di sorveglianza, strumento flessibile e dinamico, oggetto di periodiche revisioni in virtù delle variazioni ambientali e temporali.

A loro volta, i medici di Medicina Generale constatano direttamente nei loro ambulatori la diffusione sempre maggiore di patologie anche tumorali, e soprattutto la loro comparsa precoce, e i pediatri rilevano nei bambini - specie se residenti in zone più inquinate o più trafficate - di patologie come asma, bronchiti, broncopolmoniti e soprattutto tumori.

Gli specialisti, infine, registrano le variazioni delle patologie cronico-degenerative, tra cui quelle cardiocircolatorie e respiratorie, che sono le principali cause di mortalità e di ricovero.

Gli evidenti effetti negativi del danno ambientale sulla salute pubblica hanno posto la classe medica di fronte alla responsabilità di orientare il proprio ruolo professionale, oltre che nei riguardi di obiettivi sociali, verso scelte sempre più decise a favore di uno sviluppo ambientale sostenibile. Il medico non ha più solamente una responsabilità personale e individuale nei confronti del singolo paziente, ma ha anche una responsabilità collettiva che lo coinvolge nella sua funzione sociale. La professione medica permette forse più di ogni altra di suggerire scelte concrete che ci aiutino a vivere in un ambiente meno degradato: ecco perché il medico è tenuto non solo ad applicare una medicina curativa ma anche a promuovere una medicina della salute. Con l'introduzione all'art. 5 nel Codice Deontologico della FNOMCeO il medico diventa una delle figure professionali chiamate a svolgere un ruolo attivo nella tutela del diritto individuale e collettivo alla salute e ad un ambiente salubre. I medici che operano sul territorio devono affiancare gli specialisti che tutti i giorni verificano i danni che l'ambiente inquinato determina nella popolazione, divenendo così la reale congiunzione fra sistema sanitario, popolazione e mondo scientifico.

In questo senso si pone il *"Documento Ambiente"*, il progetto comune della *Federazione Nazionale Ordini Medici Chirurghi e Odontoiatri (FNOMCeO)* e dell'*Associazione Medici per l'Ambiente (ISDE Italia)* che traduce i principi appena espressi in azioni concrete. FNOMCeO e ISDE Italia, insieme ai rappresentanti dei vari Ordini dei Medici provinciali, si sono incontrate più volte ad Arezzo nell'ambito del progetto congiunto *"Per l'ambiente gli uomini sono responsabili, i medici due volte"* per mettere sul tavolo proposte di lavoro in tema di salute e ambiente. Tra queste una tra le più importanti riguarda la definizione di una strategia di formazione dei medici in tema di prevenzione ambientale. Da decenni nei convegni medici si discute di salute, rischi da lavoro, ambiente e inquinamento e i ricercatori si impegnano per evidenziarne le correlazioni. È necessario intervenire nei confronti di soggetti che perseguono iniziative non rispettose della salute e dell'ambiente di vita e di lavoro.

L'*Associazione Medici per l'Ambiente (ISDE Italia)* si caratterizza per il suo ruolo scientifico e di *advocacy* e individua come priorità l'alleanza e la collaborazione con la comunità scientifica, le istituzioni e la società civile con l'obiettivo di favorirne l'utile interazione. L'obiettivo precipuo di ISDE Italia è quello di supportare con specifiche conoscenze scientifiche le decisioni politico-istituzionali. Sulla base di questo presupposto l'Associazione ha prodotto documenti basati sui principi fondamentali del diritto alla salute, del principio di precauzione, della prevenzione primaria e dell'informazione indipendente con l'obiettivo di mettere a disposizione le proprie conoscenze e competenze scientifiche per sostenere sia le iniziative istituzionali che quelle promosse dalla società civile. Gli obiettivi principali della nostra azione sono infatti: privilegiare la prevenzione primaria attraverso una valutazione preventiva del rischio biologico connesso alle sostanze immesse nell'ambiente, promuovere il *Principio di Precauzione* contro il conservatorismo scientifico, assicurare la dichiarazione di eventuali conflitti di interessi da parte di ricercatori e consulenti, comprendere la reciproca corrispondenza tra emergenza ambientale ed emergenza socio-economica, contrastare il consumismo. Ricordando come sulla base di tale Principio in caso di rischio di danno grave o irreversibile per la salute,

l'assenza di una piena certezza scientifica non costituisca un motivo valido e sufficiente per differire l'adozione di misure adeguate ed effettive dirette a prevenire il degrado ambientale.

Su queste basi la prima linea di difesa contro le patologie cronico-degenerative, e segnatamente quelle oncologiche, è la *Prevenzione primaria*, intesa come l'adozione di interventi e comportamenti in grado di evitare o ridurre l'esposizione delle popolazioni ad agenti e fattori potenzialmente patogenetici e, quindi, l'insorgenza e lo sviluppo di malattie correlate. L'attuazione di una vera *Prevenzione primaria* è stata spesso ostacolata, in questo ambito, da quanti vedevano minacciati i propri profitti e interessi economico-finanziari, a differenza di quanto è accaduto per l'identificazione e la lotta agli agenti causali delle malattie infettive e contagiose, sempre salutata con entusiasmo.

Per gli stessi motivi anche il *Principio di Precauzione* viene costantemente disatteso. È innegabile che se si fosse applicato tale Principio fin dai primi allarmi circa la cancerogenicità dell'amianto, del benzene e di altri inquinanti procancerogeni e cancerogeni si sarebbe evitato il costante incremento di patologie neoplastiche che da alcuni decenni interessa anche i bambini.

Anche la *Valutazione di Impatto Sanitario (VIS)*, cioè la valutazione degli effetti di una particolare azione sulla salute di una specifica popolazione, non è stata fino ad oggi normata, almeno nel nostro paese. Sembra invece che in questi tempi di "crisi" si possa andare verso una generale deregolamentazione, un'ulteriore riduzione dei controlli e un depotenziamento dei principali enti e strumenti deputati alla sorveglianza epidemiologica.

Una fondamentale strategia disinformativa consiste nel porre al centro delle politiche di Sanità Pubblica i fattori di rischio individuali in alternativa a quelli collettivi. Così ad un intervento di *Prevenzione primaria*, di difficile realizzazione, si preferiscono le campagne educative. Così l'unica prevenzione primaria che viene tuttora indicata come valida è quella che concerne le scelte individuali, per esempio il fumo di sigaretta, l'alimentazione e l'esercizio fisico e che attribuisce ai cittadini la piena responsabilità circa la propria salute, deresponsabilizzando al contempo la classe politico-istituzionale

L'"ideologia" sanitaria attuale è, infine, sempre più condizionata da una prassi commerciale e ipertecnologica ed è sempre più incentrata su diagnosi, terapia e prevenzione secondaria invece che sulla *Prevenzione primaria*, che sarebbe molto meno dispendiosa.

È necessario contrastare la cultura economicistica. È necessario contrastare una logica che rischia di garantire solo un nucleo ridotto di servizi gratuiti, senza garantire l'intero percorso di diagnosi e cura, e tanto meno la Ricerca di Base e la Prevenzione Primaria.

Le statistiche dimostrano che dove c'è un SSN pubblico efficiente la salute pubblica è più tutelata. Ma è anche evidente che la *Sanità Pubblica* dovrà ridurre gli sprechi per continuare ad esistere. Perché è un dato di fatto che si sprecano immense risorse per esami inutili e terapie inappropriate e che per queste ragioni la Sanità costa sempre di più e diventa insostenibile. A causa di un Consumismo sanitario che comprende l'uso di prestazioni sanitarie in necessarie e che va a discapito delle categorie più fragili economicamente, ma anche culturalmente.

L'impegno dei medici nell'ambito della medicina ambientale non può infine ridursi ad un'opera di contenimento e riparazione dei danni diretti e immediati dei contaminanti ambientali, ma deve tradursi in un'azione a più ampio raggio affinché la società nella quale viviamo modifichi le sue priorità a favore della salvaguardia della salute dei bambini di oggi e delle generazioni future.

Roberto Romizi
Presidente ISDE Italia

PREMESSA

*The important thing in science is not so much to obtain new facts
as to discover new ways of thinking about them.*

Sir William Bragg¹
(Nobel Prize for Physics, 1915)

Per decenni l'*ambiente* è stato definito in modo vago e considerato come un determinante di salute fra i tanti. La gran parte dei medici e degli operatori sanitari considerano la tematica *ambiente e salute* come non particolarmente interessante. Al contrario se si propone come titolo di un corso di formazione "*Genetica/genomica* (o, negli ultimi anni, *Epigenetica*) e Salute" l'interesse è assicurato. Cercheremo di spiegare come tutto questo sia frutto di un singolare fraintendimento e rischi di condurre a una fatale sottovalutazione di problematiche di importanza primaria non solo per la salute umana, ma per la sopravvivenza stessa della nostra specie.

Lo scarso interesse da parte dei medici (e in particolare dei medici italiani) per la tematica **ambiente e salute** è frutto di una condizione di profonda ignoranza della materia: ignoranza dovuta *in parte* al fatto che nel nostro *curriculum studiorum* l'argomento ha scarso rilievo e valore, *in parte* ad alcuni errori di fondo che hanno profonde radici nel modello bio-medico e scientifico imperante.

Una riflessione critica riguardo a una simile tematica non può che partire da alcune domande veramente fondamentali: cosa s'intenda generalmente e cosa dovremmo intendere con il termine **ambiente** e cosa con il binomio **inquinamento ambientale**? In che misura le migliaia di nuovi agenti chimici di sintesi e/o di scarto che abbiamo immesso in pochi anni in atmosfera e nelle catene alimentari possono interferire con il funzionamento, con la stabilità, con la corretta trasmissione del nostro DNA (o del nostro genoma) da una generazione all'altra? Quante tra queste "nuove" molecole (che non sono cioè il prodotto di una lenta co-evoluzione molecolare) sono state sufficientemente indagate, tanto da poter dimostrare o escludere un loro possibile effetto dannoso sul DNA e sulla salute umana? E analogamente, per quanto concerne l'introduzione in ambiente di sempre nuove sorgenti artificiali di radiazioni non ionizzanti: cosa sappiamo circa la possibilità che le diverse radiofrequenze (da sole o in sinergia con altre fonti e forme di inquinamento chimico-fisico) interferiscano con il nostro DNA e/o con le principali *pathways* segnaletiche intra- e intercellulari? E ancora: in che misura i continui e stupefacenti progressi nel campo della genetica, della biologia molecolare e più specificamente dell'epigenetica hanno cambiato il nostro modo di studiare, interpretare, valutare gli effetti che una simile, drammatica trasformazione ambientale potrebbe avere sulla nostra salute e sullo stesso processo bio-evolutivo? E per converso: in che misura le trasformazioni epidemiologiche in atto sono state fin qui correttamente analizzate e collegate a quanto andiamo scoprendo (e ci sforziamo di comprendere) in campo molecolare?

Una prima riflessione si impone. Negli ultimi anni la ricerca nel campo della **biologia molecolare** e, in particolare, dell'**epigenetica** ha dimostrato che le **sollecitazioni** e le **informazioni** provenienti dall'ambiente:

- non solo vengono recepite, trasmesse, elaborate, integrate a vario livello... dagli organi/epiteli sensoriali specifici posti sulla superficie del nostro corpo... dalle vie extracellulari di trasmissione del segnale... dai recettori posti sulle membrane cellulari... dalle complesse *pathways* molecolari intracellulari di elaborazione e modulazione del segnale...

- non solo sono in grado di indurre l'**epigenoma** (cioè la componente più “fluida”, da alcuni scienziati definita il *software*, del nostro genoma) a reagire, modificando nel continuo l'assetto cromatinico e quindi le potenzialità espressive e il funzionamento di miliardi di cellule.
- ma sono addirittura in grado di interagire direttamente o indirettamente (per il tramite dell'epigenoma e di tutta una serie di proteine enzimatiche e RNA minori che, per così dire, gravitano attorno al DNA) con la stessa sequenza-base del DNA inducendola a trasformarsi e modificando, in ultima analisi, il nostro fenotipo.

Su queste basi possiamo anche affermare che non c'è **modifica del nostro fenotipo** che non sia indotta dall'**ambiente** (cioè dalle **informazioni** provenienti da questo) e modulata dall'**epigenoma**.

Ma se le cose stanno in questi termini, se è ormai provato che le sollecitazioni/informazioni provenienti dall'ambiente inducono, in ultima analisi, nel nostro organismo modifiche molecolari, cellulari, tissutali, sistemiche più o meno stabili a carico del nostro fenotipo... come è possibile che l'**ambiente** venga ancora considerato un determinante **secondario** di salute?

Una prima risposta è che molte delle suddette conoscenze non sono ancora sufficientemente condivise al di fuori dell'ambito ristretto dei ricercatori ed esperti della materia; molte sono considerate, da taluni scienziati e ricercatori, come mere ipotesi o addirittura rifiutate nella misura in cui **contraddicono** la rappresentazione scientifica dominante; altre non sono sufficientemente condivise; la gran parte non è stata ancora inserita e integrata nel grande *puzzle*, in via di definizione, di una **bio-medicina al contempo molecolare, evolutivistica, sistemica**.

Alcune di queste idee e nozioni vengono anche criticate sul piano teoretico ed epistemologico: esempio emblematico è l'uso del concetto (o metafora) di **informazione** in campo biologico e in particolare in ambito genetico. È utile ricordare, a questo proposito, che il termine *informazione* è usato, in questo ambito, da decenni: diciamo almeno a partire dalla definizione del cosiddetto *Dogma di Crick* secondo cui l'*informazione* di base (il programma per la costruzione degli organismi) sarebbe contenuta essenzialmente nel DNA e la sua realizzazione/attualizzazione seguirebbe un flusso (*informazionale*) monodirezionale obbligato, dal DNA, all'RNA, alle proteine. O dalle riflessioni di Monod e Jacob sulla grammatica e sul senso della vita.

La critica a questo modello, evidentemente e dichiaratamente **lineare e riduzionistico**, da parte di alcuni scienziati è assolutamente legittima, nella misura in cui si basa sulla nozione di *circularità* del flusso di *informazioni* (*chimico-fisiche*: inerenti alla diversa conformazione molecolare delle varie sostanze e forme di vita o alla differente frequenza e lunghezza d'onda dell'energia radiante) che attraversa la biosfera e sollecita e, in certa misura plasma, gli esseri viventi.

Altri ricercatori e scienziati, però, giungono a contestare l'uso stesso del termine *informazione* in biologia, sostenendo trattarsi di una *metafora*, quindi di qualcosa di essenzialmente concettuale (o addirittura linguistico) che, come tale, non può avere un ruolo fondamentale in ambito scientifico. Critica difficilmente accettabile che dimentica come tutta la scienza e in particolare la biologia faccia uso di metafore (basti pensare al concetto di *selezione naturale* che domina il campo della biologia evolutivistica da Darwin in avanti) e come almeno a partire dal primo '900 (Heisenberg) la consapevolezza che qualsiasi teoria (rappresentazione) scientifica nasce, per così dire, nella mente umana (piuttosto che dalla diretta esperienza del mondo) dovrebbe essere propria di tutti gli uomini di scienza.

Il discorso si fa ancora più complesso se proviamo a porci la domanda: *Come interferisce l'ambiente sulla salute umana?* E, più specificamente *Potrebbero le **drammatiche trasformazioni ambientali** provocate da Homo sapiens sapiens in pochi decenni aver (svolto) un ruolo significativo nelle recenti trasformazioni epidemiologiche?* In pratica: su quella che è stata definita una quarantina di anni fa come l'*era delle malattie degenerative e antropiche*² o su una più complessiva e articolata **Rivoluzione epidemiologica del XX secolo**, consistente, come vedremo, in un duplice *trend* epidemiologico: una rapida riduzione delle patologie acute, infettive e parassitarie, che per millenni hanno caratterizzato la nostra vita sulla terra (e contribuito a formare i nostri sistemi

difensivi e, più in generale, immuno-competenti) e un incremento speculare di malattie cronico-degenerative (endocrino-metaboliche, del neurosviluppo e neurodegenerative, immunomediate e tumorali) che caratterizza la vita dell'uomo in epoca post-industriale?

Cercheremo di mostrare quali siano i principali limiti concettuali e le inerzie culturali che ci impediscono di collegare tra loro le nozioni e conoscenze suaccennate.

A tale scopo cercheremo, *in prima battuta*, di definire

- l'**ambiente** quale fonte di **informazioni**, cioè di sollecitazioni specifiche, in grado di indurre nel nostro e in altri organismi reazioni e modifiche epigenetiche, genetiche/genomiche e fenotipiche;
- l'**inquinamento** in termini di modifiche quali-quantitative recenti della composizione chimico-fisica dell'ecosfera (atmosfera, idrosfera, litosfera, biosfera) e delle catene alimentari, in grado di indurre negli organismi (e in particolare nell'uomo) modifiche (epi)genotipiche e fenotipiche sufficientemente stabili, documentate e chiarite sul piano dei meccanismi patogenetici.

Proveremo a chiederci in che modo e in che misura

- i **modelli patogenetici** attualmente *in auge* riescano a spiegare l'insorgenza di malattie generalmente collegate (almeno in parte) a fattori ambientali e, in particolare, a specifiche situazioni di inquinamento;
- **modelli patogenetici** che tengano conto delle più recenti acquisizioni nel campo della biologia molecolare, in particolare nel campo dell'**epigenetica**, cioè di quella branca della biologia molecolare che studia specificamente le modifiche molecolari indotte dalle sollecitazioni e informazioni provenienti dall'ambiente (e in particolare dal microambiente tissutale) nel genoma delle cellule, siano utili/necessari per una migliore comprensione della rivoluzione epidemiologica in atto.

Cercheremo quindi di comprendere quanto sia **urgente e necessaria in campo bio-medico** l'abbandono di un modello, ormai superato - lineare, gene-centrico, statico e passivo - di **DNA** e l'introduzione di un nuovo modello di **genoma**, complesso/sistemico, attivo, interattivo, reattivo alle sollecitazioni/informazioni provenienti dall'ambiente [non solo per ciò che concerne la componente **epigenetica**, più fluida e dinamica (le marcature labili a carico delle code istoniche e del DNA, i *networks* di RNA minori, la conformazione tridimensionale della cromatina) ma anche, come meglio vedremo, per la stessa sequenza di DNA, a partire dalle cosiddette **sequenze mobili** (incredibilmente da taluni tuttora considerate *junk/spazzatura*, semplici residui di precedenti invasioni virali, ma che secondo alcuni biologi molecolari rappresentano la componente più dinamica del DNA, in grado di indurre, specie in situazioni di *stress* cellulare e tissutale, modifiche reattive e adattative nella sequenza e, in ultima analisi, del fenotipo)]³.

Già sulla base di queste poche riflessioni è facile intuire come una più profonda conoscenza e una più precisa definizione *da un lato* di ciò che si debba intendere per **ambiente** (e in particolare per **inquinamento**), *dall'altro* delle **interazioni molecolari e in particolare epigenetiche e genomiche** indotte da questo, possano aiutarci a meglio inquadrare

- tanto i singoli **meccanismi patogenetici e quadri patologici** provocati o co-determinati da fattori e modifiche ambientali;
- quanto le più complessive **trasformazioni epidemiologiche** che caratterizzano il mondo post-industriale.

Accenneremo poi al fatto che un tale inquadramento, meglio definito nei dettagli e al contempo più complessivo, ci consentirebbe di rivedere e di meglio comprendere

- tanto i meccanismi che le modalità della continua **interazione tra ambiente esterno** (informazioni esogene), **ambiente interno** (in particolare ecosistema microbica endogeno) e **cellule** (in particolare **genoma** cellulare) nell'ambito del singolo organismo umano,
- quanto i **meccanismi e le modalità bio-evolutive**, concernenti l'intera biosfera e le diverse specie.

Torneremo a più riprese sulla fondamentale differenza esistente:

- tra il **modello bio-evolutivo neodarwinista** (oggi dominante), nel quale l'**ambiente** svolge un ruolo essenzialmente **selettivo** su organismi e specie intrinsecamente (e in buona sostanza casualmente/stocasticamente) mutevoli (mutanti),
- e un **modello bio-evolutivo alternativo**, definibile come **costruttivo e neo-lamarckiano**, nel quale l'**ambiente**, inteso come fonte di **informazioni** sempre nuove e diverse, eserciti un ruolo **istruttivo** cioè **induttivo** di modifiche epigenetiche, genomiche e fenotipiche, tanto sulle **cellule somatiche e staminali** (tessutali) degli organismi adulti (con effetti immediati), che sulle **cellule germinali e sulle cellule embrio-fetali in via di differenziazione** (epigenetica, genomica e fenotipica) (con effetti transgenerazionali e collettivi/di specie nel medio-lungo termine: **modello devo-evo**).

È utile, a questo proposito, ricordare come:

- la sigla **evo-devo** derivi da *Evolutionary Developmental Biology* (*Biologia evolutiva dello sviluppo*), la disciplina scientifica che analizza in chiave evolutiva la struttura e le funzioni del genoma e indaga il rapporto tra sviluppo embrio-fetale di un organismo (*ontogenesi*) e l'evoluzione della sua popolazione di appartenenza (*filogenesi*);
- nell'ambito della storia dell'evoluzionismo la corrente **evo-devo** abbia cercato di reintegrare l'embriologia al modello evolutivo dominante⁴;
- utilizzare il binomio **devo-evo** significhi stressare ulteriormente il dato di fatto innegabile che è nel periodo embrio-fetale, quindi, come meglio vedremo, al momento della **programmazione epi-genetica di cellule, tessuti e organi** che la Natura mette in campo e alla prova, in miliardi di organismi, le sue **strategie e soluzioni adattative/evolutive**.

Difficile non riconoscere l'importanza di questa problematica:

- se infatti nell'ambito di un **modello bio-evolutivo neo-darwinistico/selettivo** le drammatiche trasformazioni dell'ambiente (cioè della composizione chimico-fisica dell'ecosfera) indotte dall'uomo potrebbero svolgere un ruolo tutto sommato secondario e necessiterebbero di tempi lunghissimi per produrre conseguenze significative
- nell'ambito di un **modello bio-evolutivo, neo-lamarckiano, induttivo e istruttivo**, le continue sollecitazioni **informazionali** apportate da migliaia di molecole di sintesi e/o dai prodotti di scarto dei processi industriali (non frutto di una lenta *co-evoluzione molecolare* adattativa), le continue modifiche antigeniche indotte in virus e microrganismi (endogeni ed esogeni) esposti a una potente pressione selettiva e induttiva (*horizontal gene transfer*), l'incessante immissione in ambiente di nuove forme e tipologie di energia radiante, tanto ionizzante che non-ionizzante (in questo secondo caso si tratta di radiofrequenze del tutto nuove in ambito bio-evolutivo) potrebbero invece indurre effetti drammatici direttamente e in breve tempo.

Vedremo, in particolare, che nell'ambito di questo secondo modello/paradigma, le **malattie cronico-degenerative e tumorali** verrebbero a configurarsi come modificazioni reattivo/adattative stabili del nostro epigenotipo/fenotipo (e in certa misura del nostro genotipo), **indotte** appunto dalla drammatica trasformazione ambientale e delle catene alimentari operata da *Homo sapiens* in pochi decenni... e acquisterebbero un significato assai più drammatico.

Questo volume non ha alcuna pretesa di completezza e neppure di sistematicità.

Nasce con l'obiettivo di proporre una **lettura diversa** da quella dominante dei modi in cui l'inquinamento ambientale e, in particolare, la drammatica alterazione chimico-fisica dell'ecosfera, operata dall'uomo in pochi decenni, rischia di **interferire** pesantemente non solo con il nostro stato di salute, ma persino con i processi bio-evolutivi.

A questo scopo proporremo una breve disamina di quelli che sembrano poter essere, alla luce della letteratura scientifica più aggiornata, i reali effetti sulla salute individuale e collettiva dell'inquinamento atmosferico:

esempio emblematico di una situazione in cui a rischiare di essere aspramente e durevolmente danneggiati non sono/saranno più/tanto (come nell'epidemiologia tradizionale/occupazionale) alcune specifiche categorie di soggetti pesantemente esposti, ma l'intera popolazione e, in particolare, i bambini e le generazioni future.

Proporremo quindi alcuni esempi altrettanto emblematici di quelle che potrebbero essere le conseguenze epidemiologiche di questa esposizione sempre più collettiva e precoce ad agenti e sostanze epigenotossiche, mutagene, procancerogene: la **“pandemia” di obesità e diabete 2** e quelle (forse meno eclatanti, ma non meno preoccupanti) di **malattie del neurosviluppo, neurodegenerative e tumorali** che, come accennavo, potrebbero configurare una vera e propria **rivoluzione epidemiologica** (caratterizzata non solo da un aumento progressivo, ma anche da una significativa anticipazione dell'età di esordio di tali patologie) e che potrebbero essere (come cercherò di chiarire) la drammatica conseguenza dei tentativi di ri-programmazione epigenetica (reattivo-adattativa) di organi e tessuti messi in atto dall'embrione-feto (**fetal programming**).

A conclusione di questa disamina critica sul drammatico panorama biologico-sanitario che potrebbe far seguito a un'esposizione sempre più collettiva e precoce a migliaia di molecole di sintesi o di scarto (per la quasi totalità insufficientemente studiate) e a una crescente varietà e quantità di radiazioni ionizzanti e non-ionizzanti, crediamo di poter affermare:

- che per troppo tempo ci siamo lasciati rassicurare da **dati epidemiologici parziali e letti in modo troppo ottimistico**: in particolare per quanto concerne i dati sull'incremento complessivo dell'età media, che a questo punto sembrerebbe configurarsi come l'effetto, purtroppo transitorio, di tutta una serie di miglioramenti igienici, tecnologici, farmacologici e sanitari in genere, che al contempo rischiano, paradossalmente, di mascherare le ricadute negative di quello stesso progresso scientifico e tecnologico che ci ha permesso di vivere, per alcuni decenni, meglio e più a lungo;
- che soltanto una strategia concreta, responsabile e lungimirante di **prevenzione primaria**, imperniata su una progressiva riduzione dell'immissione in ambiente e catene alimentari di molecole ed agenti potenzialmente (epi)genotossici, che potrebbero interferire in modo determinante sulla programmazione embrio-fetale e quindi sull'avvenire della nostra specie, da molti evocata (il più delle volte in modo improprio), ma mai realmente programmata e perseguita potrebbe impedire un ulteriore peggioramento della situazione che potrebbe avere conseguenze imprevedibili per la salute dell'uomo e dell'intera biosfera.

Ernesto Burgio

Presidente ISDE Scientific Committee (International Society of Doctors for Environment)

Membro Commissione Ambiente e Salute SIP (Società Italiana di Pediatria)

Membro Comitato Scientifico ECERI (European Cancer and Environment Research Institute)

INTRODUZIONE: SETTE PAROLE CHIAVE

Prima di dare inizio alla trattazione vera e propria della tematica che vogliamo esaminare, ci sembra necessario proporre alcune definizioni, senza le quali sarebbe difficile, se non impossibile, comprendere appieno il quadro generale che cercheremo di delineare. Le sette parole o concetti chiave che proporremo qui di seguito rappresentano le “fondamenta possibili” di un modello al contempo molecolare (epigenetico) e sistemico che si va definendo nell’ambito della patogenesi e della cancerogenesi umana o, per meglio dire, di un modo diverso di concepire il processo stesso di programmazione e realizzazione del nostro fenotipo, che rappresenta, come vedremo, soltanto uno degli infiniti fenotipi che le informazioni provenienti dall’ambiente possono “estrarre e continuamente ridefinire” a partire dal programma contenuto in potenza nelle nostre biomolecole e, in particolare, nel nostro DNA.

Esattamente mezzo secolo fa il fisico e storico della scienza Thomas Kuhn pubblicò, nell’*Encyclopedia of Unified Science* della Chicago University Press un piccolo libro, destinato a diventare una pietra miliare nel dibattito sulla storia delle idee scientifiche: *La Struttura delle Rivoluzioni Scientifiche* (1962). La tesi principale del libro, da allora enormemente dibattuta e non di rado contestata, era che la *Scienza* (come la *Natura* e come lo stesso *DNA* nel suo lento processo di costruzione), procede a salti: non soltanto, cioè, per lento accumulo di idee, ma per improvvisi “*slittamenti di paradigma*”. L’accumulo continuo di nuovi dati, idee e teorie metterebbe via, via in evidenza l’inadeguatezza del paradigma dominante, accettato dalla gran parte della comunità scientifica. Per un certo lasso di tempo gli scienziati che sul paradigma dominante hanno a lungo fondato le proprie certezze, la propria fama e persino il proprio potere cercheranno di conservarlo a tutti i costi, aggiungendo al modello in crisi piccole modifiche e correttivi (l’esempio emblematico essendo, in questo senso e contesto, gli *epicicli* aggiunti per secoli dai sostenitori del paradigma tolemaico pur di mantenerlo in vita) e opponendosi strenuamente al suo abbandono.

Quasi un secolo fa di fronte alle inevitabili difficoltà incontrate dal nuovo modello quantistico nell’ambito della fisica teorica, il grande fisico austriaco Max Planck ebbe a dire che perché un nuovo e miglior modello teorico (appunto un nuovo *paradigma*) possa subentrare a uno precedente è necessaria la morte dei sostenitori di questo.

Una quindicina di anni fa, infine, un noto biologo molecolare, Richard Strohman, in un famoso articolo pubblicato su *Nature Biotechnology* (il giornale che è un po’ il manifesto della biologia molecolare riduzionista), prese le distanze, come meglio vedremo in seguito, proprio dalla biologia riduzionista dominante, simboleggiata dal cosiddetto ***Dogma di Crick*** secondo cui **il DNA sarebbe la sede del Programma genetico del singolo individuo e conterrebbe tutte le informazioni necessarie e sufficienti per la costruzione del suo fenotipo: un modello lineare nel quale l’informazione viaggia, per così dire, a senso unico, dal DNA appunto alle proteine e al fenotipo e non potrebbe in alcun modo andare in senso opposto⁵.**

La tesi dell’articolo era duplice: *da un lato* Strohman sosteneva che il *Dogma di Crick* rappresenta un’indebita generalizzazione di un modello valido se riferito esclusivamente al processo di *trascrizione* genica, ma del tutto insufficiente a rappresentare la rete, incredibilmente complessa ed essenzialmente *epigenetica*, delle interazioni molecolari, per così dire circolari e/o sistemiche, che inducono e modulano l’intero processo

di espressione genica sulla base delle informazioni provenienti dall'ambiente (e dal micro-ambiente), continuamente adeguandolo alle esigenze della cellula, del tessuto e dell'intero organismo; *dall'altro* metteva in risalto il fatto, paradossale, che mentre la fisica teorica (per definizione la branca della scienza più formale e astratta) aveva sperimentato all'inizio dello scorso secolo una grande *rivoluzione paradigmatica*, la biologia, che dovrebbe essere la scienza più sistemica e complessa, appariva irretita da precisi e ristretti limiti e concetti dogmatici e attendeva ancora la sua *Rivoluzione Kuhniana*.

Quelle che abbiamo appena sintetizzato rappresentano le principali coordinate epistemologiche all'interno delle quali abbiamo concepito il presente lavoro, che andrebbe letto come una sorta di proposta concettuale prope-deutica alla sempre più necessaria ed urgente *Rivoluzione Kuhniana* della biologia molecolare contemporanea invocata da Strohman. Ed è in questa luce e in questo contesto che dovrebbero essere lette e interpretate le **sette parole-concetti chiave** che esamineremo qui di seguito.

● **Prima parola chiave: *epigenetica***

La prima parola chiave su cui vogliamo riflettere è *epigenetica*: un termine che è diventato di moda in questi ultimi anni, ma che può essere interpretato in vario modo.

La nostra proposta è quella di non limitarsi a pensare l'*epigenetica* come una parte, tutto sommato secondaria, della genetica: le *marcature del DNA*, il *codice delle modifiche istoniche*, le *interferenze degli RNA minori* che possono modulare in vario modo la trascrizione e traduzione del messaggio contenuto nel DNA, e di riconoscere nello studio dell'*epigenetica* lo strumento più adatto e potente per costruire un **nuovo modello di genoma finalmente sistemico e inteso come *network* molecolare dinamico, fluido, unitario e interattivo al suo interno e con l'esterno**.

Cercheremo in pratica di proporre un modello di *genoma* nel quale l'*epigenoma* (che alcuni scienziati hanno anche definito il *software* del genoma) si comporta come una sorta di **camera di compensazione**: il luogo specifico in cui il **flusso di informazioni** che proviene dall'esterno (ambiente e microambiente) incontra e si confronta con le **informazioni codificate** da milioni di anni nel DNA (cioè nell'*hardware*), orchestrando tutti i principali processi molecolari che determinano le modifiche strutturali e funzionali di cellule e tessuti e concorrono alla continua trasformazione del nostro fenotipo (tanto in ambito fisiologico che patologico).

● **Seconda parola chiave: *ambiente***

La seconda parola chiave che dobbiamo cercare di ri-definire è **ambiente**: nel senso che in un contesto come quello che stiamo cercando di costruire non avrebbe senso usare il termine ambiente in modo vago e generico. Sarebbe importante intendere, invece, con questo termine, il **flusso continuo delle informazioni** che provengono dall'esterno (ambiente in senso lato e microambiente interno all'organismo: cellulare, tissutale e sistemico) e raggiungono l'*epigenoma* (*software* e "camera di compensazione" del genoma), inducendolo continuamente ad attivarsi e a modificare il proprio assetto molecolare e tridimensionale. In pratica: a mutare continuamente, nell'immediato, l'assetto specifico delle marcature delle code istoniche (che rappresentano, per così dire, i "sensori" della cromatina) e dei *network* di RNA minori (non codificanti) che modulano in vario modo i processi trascrizionali, traduzionali e postraduzionali.

Dovrebbe essere evidente come, in un simile contesto, per ambiente si debba anche intendere la **composizione chimico-fisica dell'atmosfera, della biosfera, delle catene alimentari e i suoi cambiamenti: in particolare per ciò che concerne i moltissimi agenti fisici** (ad esempio le **radiazioni ionizzanti e non ionizzanti**), le molecole (in particolare gli *xenobiotici*) e gli altri **agenti chimici** (come i **metalli pesanti**) che interferiscono con l'*epigenoma* delle nostre cellule e lo inducono continuamente a rispondere, a riposizionarsi per modulare l'espressione del genoma e per permettere alle cellule e all'intero organismo di adattarsi a un ambiente che cambia assai più rapidamente del DNA.

● **Terza parola chiave: *fetal programming***

La terza parola chiave è *fetal programming*. Anche in questo caso quel che dobbiamo sottolineare è che non ci troviamo qui di fronte a un concetto generico, concernente il modo in cui il "programma genetico" contenuto

nel DNA si traduce, durante i nove mesi dell'*ontogenesi*, in uno specifico fenotipo complesso. Ma, al contrario, di un concetto tecnico ben preciso che si riferisce alla *capacità*, ma al contempo alla *necessità* delle cellule embrio-fetali di definire il proprio assetto epigenetico in risposta (**adattativa e predittiva**) alle informazioni provenienti dalla madre e, attraverso di essa, dal mondo esterno.

Potremmo sintetizzare tutto questo dicendo che il programma genetico specifico di un dato individuo è in realtà il prodotto di nove mesi di **formattazione epigenetica adattativo-predittiva** di miliardi di cellule. L'*ontogenesi* embrio-fetale rappresenta infatti la fase della vita di gran lunga più sensibile alle informazioni provenienti dall'ambiente (in particolare allo *stress* materno-fetale, agli errori nutrizionali, agli agenti inquinanti..) proprio perché le cellule in via di differenziazione sono estremamente *plastiche* sul piano epigenetico: sono infatti le diverse marcature epigenetiche che rappresentano l'essenza e il prodotto del *fetal programming* a definire il programma-base per la costruzione del nostro fenotipo individuale (valido per tutta la vita).

Ed è proprio in questa fase che **l'ambiente svolge il ruolo più importante**: per capire in che senso e in che misura è fondamentale prendere in considerazione la quarta parola chiave.

● Quarta parola chiave: *developmental plasticity/plasticità dello sviluppo*

La quarta parola chiave, *developmental plasticity/plasticità dello sviluppo*, è termine che viene dalla biologia evoluzionistica e si riferisce ai molti possibili fenotipi (*polifenismi*) che possono derivare da un unico genoma, sulla base, nel caso dei mammiferi e dell'uomo in particolare, delle informazioni che provengono dalla madre e dall'ambiente.

Siamo qui di fronte a un punto veramente essenziale, sul quale vale la pena soffermarsi un po' più a lungo. Per meglio comprendere il concetto di *plasticità dello sviluppo* dobbiamo ribadire ancora una volta che, contrariamente a quanto spesso si asserisce, il DNA non contiene il programma genetico dell'individuo, ma semplicemente un'enorme quantità di informazioni potenziali che sono il portato di miliardi di anni di evoluzione molecolare (in larga parte sintetica e costruttiva) e che il **programma genetico definitivo** del singolo individuo si forma nei nove mesi dell'ontogenesi embrio-fetale, sulla base delle informazioni provenienti dall'ambiente e, come detto, sulla conseguente programmazione epigenetica *predittiva* di organi e tessuti (*fetal programming*) [è stato anche detto che il DNA è una sorta di vocabolario, ma che "a scrivere il libro è l'ambiente"].

Si tratta evidentemente di una rappresentazione alquanto diversa da quella oggi dominante. Per comprenderla veramente a fondo è utile ricordare come i **biologi evoluzionisti** abbiano compreso da decenni che il DNA contiene in sé le informazioni per la costruzione di un numero enorme di possibili fenotipi e che è appunto l'ambiente a estrarne il fenotipo definitivo. Gli esempi non mancano: si va dalle farfalle geneticamente identiche, ma fenotipicamente assai diverse a seconda che siano nate in periodi dell'anno caratterizzati da luce e temperature più o meno forti; ai girini, che se precocemente esposti a segnali molecolari provenienti da predatori, si dotano di specifiche armi di difesa; alle api che diventano regine o operaie (completamente diverse sul piano fenotipico) a seconda della nutrizione ricevuta in epoca larvale (solo le regine sono nutrite a pappa reale); al topo Agouti, che se esposto in utero a un interferente endocrino come il bisfenolo A assume un fenotipo totalmente diverso e francamente patologico (pelo giallo, obesità, diabete 2) semplicemente a causa della de-metilazione di una specifica sequenza mobile contenuta nel sito *promoter* di un singolo gene (e potrà sia trasmettere la marcatura epigenetica negativa alle generazioni successive, sia riacquisire il fenotipo normale e trasmetterlo, se trattato con acido folico e altri donatori di metili!)

È ormai dimostrato (ed enormemente sottovalutato) che tutto questo vale anche per l'uomo. Come messo a fuoco nel corso di importanti congressi di biologia evoluzionistica, nei quali si è mostrato come anche nel nostro caso sia l'**ambiente** a informare il genoma di miliardi di cellule in via di differenziazione, inducendolo a programarsi **epigeneticamente e predittivamente**.

● Quinta parola chiave: *medicina evoluzionistica*

La quinta parola chiave è *medicina evoluzionistica*: una concezione nuova e dibattuta nell'ambito della letteratura scientifica da oltre un ventennio, con particolare riferimento alle inerzie e ai disadattamenti evolutivi che

potrebbero essere all'origine di molte patologie cronico-degenerative.

Anche in questo caso cercheremo di proporre una interpretazione assai diversa di questa concezione della biomedicina, evidentemente dotata di enormi potenzialità. A partire da una famosa affermazione del grande genetista ucraino Dobzansky, uno dei "padri" della teoria sintetica (neodarwinistica) dell'evoluzione, secondo cui nessun evento biologico potrebbe essere correttamente compreso al di fuori del modello evolutivo; ma soprattutto a partire da una concezione, per così dire, *neo-lamarckiana* oltre e più che *neo-darwiniana* del processo bio-evolutivo.

In sintesi: se il *Dogma di Crick* ha dominato e condizionato la biologia molecolare dell'ultimo mezzo secolo, quello che potremmo definire il *Dogma neodarwiniano* ha dominato l'intero campo della biologia e della stessa medicina occidentale moderna: basti pensare alla concezione corrente del cancro come "malattia genetica" essenzialmente dovuta all'accumulo, in uno specifico clone cellulare, di un numero sufficiente di *mutazioni stocastiche* per così dire "premiata dalla *Selezione Naturale*".

È utile ricordare, a questo proposito, che esistono modelli evoluzionistici alternativi: in particolare appunto il modello (*neo*)*lamarckiano*, notoriamente precedente, nella sua formulazione prima, al modello di Darwin (che oltretutto si era in larga misura ispirato ad alcune delle principali idee del suo predecessore). Ancora una volta, e in estrema sintesi, possiamo dire che nel modello (*neo*)*lamarckiano*, lungamente "rimosso", anche per motivi di ordine storico-politico dalla cultura scientifica dominante, la *Selezione Naturale*, pur essendo presente, non ha il ruolo fondamentale che ha assunto in Darwin e l'ambiente non svolge un ruolo essenzialmente selettivo, ma anche induttivo delle principali trasformazioni che determinano l'evoluzione degli esseri viventi.

Parzialmente recuperato oltre mezzo secolo fa dal genetista inglese Konrad Waddington, che potremmo definire il vero "fondatore" dell'epigenetica moderna, il modello *neolamarckiano* è tornato in auge negli ultimi decenni dapprima con la cosiddetta teoria *evo-devo* che, come meglio diremo, ha reintrodotto nell'ambito del modello evoluzionistico l'**embriologia**, sottolineando l'importanza veramente cruciale del periodo ontogenetico per lo sviluppo di ogni singolo organismo e quindi, in ultima analisi, per la trasformazione delle specie, e più di recente, proprio con lo studio della moderna **epigenetica molecolare**, *id est* dei principali meccanismi molecolari che non solo regolano l'espressione genica delle nostre cellule, ma che ne determinano, per tutta la vita, l'effettivo **programma genetico** e le caratteristiche morfo-funzionali. Già sulla base di questi pochi concetti e di quanto abbiamo detto intorno alla cosiddetta "*plasticità dello sviluppo*" dovrebbe essere evidente che sarebbe estremamente importante o addirittura necessario **reinserire anche in ambito bio-medico il modello neolamarckiano, nel quale l'ambiente esercita un ruolo fondamentale: addirittura induttivo, programmatico e costruttivo sul nostro fenotipo (tanto in senso fisiologico, che patologico).**

Uno dei concetti più noti nell'ambito del pensiero evoluzionistico è quello espresso dal discusso evoluzionista tedesco Ernest Haeckel (seguace quasi fanatico di Darwin e da molti considerato come il primo teorico dell'ecologia) e noto come *legge biogenetica fondamentale*, secondo cui l'*ontogenesi* ricapitola la *filogenesi*.

L'idea-base formulata da Haeckel (e supportata con disegni assai probabilmente modificati ad arte) secondo cui l'embrione e il feto passerebbero, durante l'*ontogenesi*, attraverso i principali stadi evolutivi percorsi dalle specie che li hanno preceduti (*filogenesi*) è indubbiamente semplicistica. Cionondimeno si tratta di un'idea dotata di grandi potenzialità euristiche, che i biologi evoluzionisti evo-devo hanno messo bene in risalto.

Che ontogenesi e filogenesi siano processi in certa misura affini e paralleli è del resto un dato di fatto innegabile. Sarebbe però importante formulare il concetto-base in modo diverso, per così dire, speculare: nel senso che in realtà l'*ontogenesi* (un processo reale) non si limita a **ricapitolare** la *filogenesi* (un processo in un certo senso *virtuale*), ma di fatto la **anticipa**. Nel senso che ogni singola larva o embrione rappresenta una sorta di **laboratorio**, nel quale **l'evoluzione sperimenta continuamente le sue soluzioni**, anzi, come abbiamo già accennato e come meglio vedremo, **progetta e programma fenotipi sempre nuovi e meglio adattati a un ambiente in continua trasformazione.**

Emerge da tutto questo chiaramente l'esigenza di tornare a rivalutare il modello *neolamarckiano*, induttivo e programmatico, anche e soprattutto in ambito biomedico, in particolare per ciò che concerne i principali meccanismi patogenetici e carcinogenetici. Ed è appunto in questo senso che dovrebbero esser lette e comprese le due prossime (e ultime) parole-chiave di questa piccola serie di concetti che vorremmo propedeutici alla

tematica che intendiamo affrontare e, in prospettiva, all'atteso e necessario **cambiamento di paradigma** in biomedicina.

● **Sesta parola chiave: Mismatch/DOHA (Developmental Origins of Health and Diseases)**

La sesta parola chiave è *mismatch* e fa riferimento, in pratica, a una possibile **insufficienza del fetal programming**: cioè a una mancata o imperfetta corrispondenza tra programmazione *in utero* e realtà postnatale, che potrebbe essere all'origine di alcune patologie umane.

Per meglio comprendere anche in questo caso la portata per così dire *rivoluzionaria* di un modello patogenetico fondato sui possibili errori di programmazione conviene ribadire e meglio collegare tra loro alcuni punti chiave. Come abbiamo visto la **programmazione epi-genetica del fenotipo attraverso la plasticità dello sviluppo ha valore adattativo-predittivo**, perché permette all'individuo di programmare in relazione all'ambiente previsto sulla base delle informazioni provenienti dall'ambiente attraverso la madre nel corso dello sviluppo embrio-fetale.

Per tornare agli esempi "classici" messi in luce dai biologi evoluzionisti possiamo facilmente comprendere che se una farfalla che ha programmato il proprio fenotipo (come detto sulla base delle informazioni termiche e luminose pervenute alla larva) così da essere attrezzata al meglio per sostenere le sfide ambientali e climatiche postnatali, si trova ad affrontare un mondo diverso da quello previsto, avrà grandi difficoltà ad adattarsi. Ancora più emblematico è il caso dei girini che, esposti (anche sperimentalmente) a molecole segnale emesse da loro *predatori naturali*, si siano dotati di "elmetti protettivi" o di altri armamenti difensivi: è infatti evidente che le rane così programmate, se immesse in uno stagno in cui siano presenti i suaccennati predatori si troveranno avvantaggiate, ma, qualora nello stagno fossero presenti predatori pericolosi in ragione della loro velocità, più che delle loro mascelle, gli "elmetti protettivi" potrebbero rivelarsi un inutile orpello o addirittura un *handicap*.

Qualcosa di simile, come detto, sembra poter avvenire anche durante l'ontogenesi embrio-fetale umana: se si registra un *mismatch* tra le informazioni che il bambino riceve prima e dopo la nascita, la programmazione epigenetica di alcuni organi e tessuti o addirittura dei principali sistemi omeostatici (primi fra tutti il sistema endocrino e quello immunitario: o, se si preferisce, l'intero sistema psico-neuro-immuno-endocrino) potrebbe risultare imperfetta e le risposte inadeguate potrebbero aumentare il rischio di malattia.

Va detto, a questo proposito, che in ambito umano il concetto di *mismatch*, si è andato via, via definendo nell'ambito degli studi concernenti gli effetti a lungo termine del *distress* prenatale, essenzialmente a partire dagli studi epidemiologici su popolazioni esposte in utero a situazioni gravemente carenziali, che manifestavano in età adulta un incremento significativo del rischio per patologie metaboliche (obesità, diabete 2), cardiovascolari e persino neuropsichiche.

Vedremo, in particolare, come il confronto tra due grandi coorti di soggetti esposti in utero durante la seconda guerra mondiale a gravi deficit nutrizionali, ma successivamente vissuti in condizioni diametralmente opposte (di ritorno alla normalità nutrizionale nel caso della coorte olandese esposta alla cosiddetta *Dutch Famine* del 1944, o, al contrario, ancora carenziali nel caso dei bambini sopravvissuti al drammatico assedio di Stalingrado) abbia contribuito notevolmente alla comprensione del meccanismo molecolare, consistente appunto in un *mismatch* epigenetico, programmatico e sistemico (concernente cioè vari organi coinvolti nell'omeostasi metabolica dell'organismo: ipotalamo, tessuto adiposo, tessuto muscolare..) nei soggetti esposti in utero e nella vita post-natale a situazioni ambientali e nutrizionali affatto diverse.

Vedremo come una simile discrepanza programmatica possa facilmente derivare *tanto* da una imperfetta nutrizione materna (o da alterazioni della funzionalità placentare), *che* dalla presenza in ambiente e quindi nei tessuti materni e nel sangue cordonale di agenti inquinanti e in particolare di particolari *molecole mimetiche* (i cosiddetti *perturbatori endocrini*) in grado di ligare e/o ingannare i recettori ormonali e nucleari in genere, *che*, infine, da rapidi cambiamenti dell'ambiente postnatale (rispetto a quello nel quale il feto si sia *programmato*). E cercheremo di dimostrare come tali meccanismi sembrerebbero poter contribuire in modo sostanziale a quella che l'OMS ha definito la **pandemia di obesità e diabete di tipo 2**, e che sembrerebbe configurarsi come un **cambiamento fenotipico (e programmatico) maggiore concernente un'intera specie**.

Negli ultimi anni, infine, la teoria del *mismatch* programmatico fetale si è andata via, via trasformando da teoria essenzialmente utile a spiegare i meccanismi patogenetici all'origine di particolari patologie tipiche dell'età adulta, a modello patogenetico fondamentale nell'ambito della cosiddetta **teoria delle origini embrionali-fetali delle malattie dell'adulto** (*DOHA-Developmental Origins of Health and Diseases*), secondo cui la gran parte delle patologie cronico-degenerative e infiammatorie in grande aumento nel corso degli ultimi decenni, dapprima nell'ambito del mondo occidentale, poi a livello globale, potrebbero essere appunto il prodotto di un *mismatch* programmatico (epigenetico) nelle primissime fasi della vita.

Siamo così giunti a quella che è l'ultima delle sette parole chiave.

● **Settima parola chiave: Transizione/Rivoluzione epidemiologica del XX secolo**

Abbiamo visto che la **pandemia di obesità e diabete di tipo 2** non andrebbe considerata semplicemente come un incremento significativo di specifiche "patologie", ma addirittura come un cambiamento fenotipico concernente l'intera specie umana. È inoltre importante sottolineare che questa trasformazione fenotipica non può essere considerata un evento a se stante, ma andrebbe inserita e compresa nell'ambito di un più generale processo di **trasformazione epidemiologica**.

Vedremo come, secondo alcuni autori, negli ultimi due secoli l'umanità intera sia andata incontro a una significativa **Transizione Epidemiologica**, consistente nel passaggio da una condizione caratterizzata da mortalità prematura diffusa e da ricorrenti e drammatiche carestie ed epidemie in grado di colpire l'intera popolazione e di decimarla, a prescindere dalle condizioni dei soggetti colpiti, a una condizione di relativa stabilità sanitaria, caratterizzata da un incremento continuo di patologie cronico-degenerative e neoplastiche tipiche della popolazione più anziana (in larga parte conseguenti ai processi para-fisiologici dell'*ageing*, cioè di senescenza cellulare, tessutale e sistemica).

Anche in questo caso cercheremo, basandoci su quanto detto fin qui, di meglio inquadrare e definire il problema: cercheremo in pratica di dimostrare come quella che stiamo vivendo rappresenti una vera e propria **Rivoluzione Epidemiologica**, caratterizzata:

- da un **rapido decremento delle patologie acute da cause esogene** (malattie infettive e parassitarie) che hanno caratterizzato e funestato la vita dell'uomo per migliaia di anni (almeno a partire dalla *rivoluzione neolitica*), ma anche contribuito a modellare i nostri sistemi di difesa e, in particolare, il nostro sistema immunocompetente;
- e da un **incremento per così dire speculare e altrettanto drammatico di patologie cronico-degenerative, infiammatorie e neoplastiche** a carico di tutti gli organi, tessuti e sistemi: patologie del sistema endocrino-metabolico (pandemia di obesità e *diabesità*) e del sistema immunocompetente (allergie e malattie autoimmuni); malattie del neurosviluppo (patologie dello spettro autistico), neuropsichiatriche e neurodegenerative (malattia di Alzheimer); malattie cardio-vascolari; neoplasie...

Vedremo anche come si sia fin qui cercato di spiegare in vario modo l'incremento significativo di singole malattie (come l'autismo, l'asma o la celiachia) o, al limite, di alcuni tipi di patologie (come le allergie o le malattie del neurosviluppo e neurodegenerative), mediante teorie basate di volta, in volta su nuove o mutate modalità di esposizione, su trasformazioni ambientali e/o su specifiche modifiche antigeniche o ancora mediante l'innescò di nuovi meccanismi immunopatogenetici o reattivi in genere, ma non si sia fin qui trovato e forse nemmeno cercato di definire un meccanismo sufficientemente generale e profondo che possa aver innescato, in pochi decenni, un processo di trasformazione epidemiologica di così ampia portata.

Noi crediamo, per contro, che la trasformazione epidemiologica suaccennata possa e debba essere inquadrata e, in certa misura interpretata, come il prodotto **da un lato della drammatica trasformazione ambientale indotta, in pochi decenni**, da *Homo sapiens*, mediante l'introduzione in atmosfera, biosfera e catene alimentari di migliaia di molecole di sintesi e di radiazioni ionizzanti e non, in grado di interferire con i principali meccanismi segnaletici (e biochimici in genere) che regolano i nostri sistemi omeostatici, **dall'altra di tutta una serie di modifiche programmatiche (epigenetiche, adattative e predittive)** che determinano variazioni anche significative della nostra reattività a un ambiente in continua (e troppo rapida) trasformazione.

CAPITOLO 1

COSA SI DOVREBBE INTENDERE PER AMBIENTE E SALUTE?

Se il tema ambiente e salute riscuote scarso interesse tra i medici è perché lo si affronta in genere in modo superficiale e poco scientifico. Se ci si rendesse conto che ambiente è letteralmente tutto, una fonte continua di sollecitazioni e informazioni che inducono le cellule e gli organismi in genere a rispondere attivamente e *adattivamente*: modificando nel breve periodo l'espressione genica di milioni di cellule (cioè tipi e quantità delle proteine prodotte) e nel medio-lungo termine lo stesso assetto (epi)genetico e fenotipico degli organismi. E se tenessimo presente che *Homo sapiens* ha cambiato in pochi decenni la stessa composizione molecolare dell'ecosfera, modificando i cicli biogeochimici che la regolano. Se, insomma, anziché parlare di ambiente e inquinamento in modo vago e impreciso, definissimo con chiarezza il significato di questi termini per meglio valutare la portata delle trasformazioni che abbiamo apportato all'ambiente in un così breve lasso di tempo e le possibili conseguenze che tutto questo potrebbe avere sullo sviluppo *ontogenetico* di ogni singolo individuo e, quindi, sulla stessa evoluzione *filogenetica* della nostra specie, il discorso sarebbe diverso. A questo scopo, dovremmo renderci anche pienamente conto del peso che hanno i nostri *modelli* nella rappresentazione, comprensione e valutazione dei problemi: rappresentazione e valutazione alquanto diverse a seconda che si decida di utilizzare il *paradigma neodarwinista*, oggi predominante, nel quale l'ambiente ha un ruolo essenzialmente selettivo (sia pur indiretto) sulle infinitesime modifiche *stocastiche* che avvengono nel nostro genotipo oppure un *modello neolamarckiano*, istruttivo e costruttivo, in base al quale ogni informazione proveniente dall'ambiente potrebbe indurre organismi, cellule e genomi a modificarsi attivamente e in modo adattivo e predittivo [altrimenti detto: se si propende per l'attuale paradigma DNA/gene-centrico nel quale il "programma genetico" è essenzialmente e stabilmente inscritto nel nostro DNA e si trasmette quasi immutato di generazione in generazione, oppure per un modello di genoma fluido/dinamico in grado di modificarsi attivamente in risposta alle sollecitazioni/informazioni provenienti dall'ambiente]. È venuto, insomma, il momento di metter mano a un nuovo e più complesso modello di Medicina Ambientale, nella piena consapevolezza che se riusciremo, finalmente, a dotare questa disciplina emergente di solide basi scientifiche, l'interesse di medici e uomini di scienza sarebbe assicurato.

*Cells must be prepared to respond to many sources of stress.
Mishaps that affect the operation of a cell must be occurring continuously.
Sensing these and instigating repair systems are essential...*
Barbara McClintock - Nobel lecture, 8 December, 1983⁶.

Una delle migliori definizioni di "ambiente" a mia conoscenza è stata proposta dal neuroscienziato Steven Rose, che in *Il cervello del XXI secolo. Spiegare, curare e manipolare la mente* scrive: **"L'ambiente è un mito tanto quanto il gene. Ambienti esistono a molteplici livelli. Per un singolo pezzo di DNA è "ambiente" tutto il resto del DNA contenuto nel genoma, più il sistema metabolico che lo circonda, proteine, enzimi, ioni, acqua. Per una cellula di un organismo multicellulare... l'ambiente è dato dalle cellule adiacenti, dalle molecole-segnale, dal flusso sanguigno, dai liquidi extracellulari.. Per gli organismi.. dal mondo biologico e fisico in cui essi si muovono e per gli esseri umani anche dal mondo sociale, culturale e tecnologico. L' "ambiente" entra**

*in gioco fin dal momento del concepimento e ciò che avviene nell'utero materno, in relazione allo stato di salute della madre e del contesto, influisce profondamente sullo sviluppo; nei gemelli identici, perfino la posizione dei due feti nell'utero causerà necessarie differenze nel processo di sviluppo... Il fatto stesso di distinguere le nozioni di gene e ambiente porta a fraintendere la natura dei processi di sviluppo. Il feto in via di sviluppo e l'individuo unico che esso si appresta a diventare, è sempre allo stesso tempo un prodotto al 100% del suo DNA e un prodotto al 100% dell'ambiente in cui quel DNA è collocato, il quale include non solo l'ambiente cellulare e materno, ma anche l'ambiente sociale in cui è collocata la madre in gravidanza. Proprio come non vi è stato alcun replicatore nudo all'origine della vita, **non esiste alcun "programma" genetico nell'uovo fecondato che possa essere isolato dal contesto in cui viene espresso...** Le tre dimensioni della struttura cellulare e della forma dell'organismo e la quarta dimensione temporale entro cui si svolge lo sviluppo, non possono essere semplicemente "dedotte" dall'unidimensionale filamento di DNA, come in un programma al computer. Gli organismi sono analogici, non digitali"⁷.*

Difficile trovare una definizione di ambiente espressa in modo altrettanto incisivo e al contempo completo. L'ambiente è definito, in pratica, da Rose come una fonte continua di **informazioni esogene, complementari a quelle inscritte** non solo nel DNA, ma in tutte le (bio)molecole e strutture cellulari e tessutali. L'intero processo di sviluppo di un organismo (*ontogenesi*) può essere visto, in questa luce, come il prodotto della dialettica tra ambiente interno (informazione codificata e attualizzata in molecole e strutture e trasmessa di generazione, in generazione) e sollecitazioni/informazioni provenienti dall'esterno (agenti fisici, chimici, biologici...). Per quanto concerne il processo ontogenetico è stato anzi dimostrato che più le forme di vita sono **complesse**, maggiore è il ruolo svolto nell'intero processo dalle sollecitazioni/informazioni *esogene*, cioè appunto dall'**ambiente**. Altrimenti detto: se per quanto concerne gli organismi relativamente semplici è riconoscibile un **programma** di sviluppo, che si ripete praticamente identico in tutti gli individui della specie (l'esempio classico essendo fornito dalle famose 959 cellule del verme *Caenorhabditis Elegans*, il cui percorso di sviluppo è programmato per filo e per segno⁸), via, via che si sale nella scala della complessità ⁹ il ruolo delle informazioni provenienti dall'esterno diventa preponderante.

Quanto detto fin qui permette **alcune riflessioni** di notevole importanza e su cui dovremo tornare.

La **prima** è che gli organismi più complessi hanno maggior *compliance* e **plasticità** di sviluppo e grande variabilità, tanto per ciò che concerne il percorso ontogenetico, quanto per ciò che concerne le possibili trasformazioni finali del fenotipo (**plasticità fenotipica** o **dello sviluppo**)¹⁰. Mentre infatti ad alterazioni di singoli *steps* programmati (conseguenti a informazioni/sollecitazioni erronee provenienti dall'ambiente) faranno inevitabilmente seguito, negli organismi semplici, difetti dello sviluppo, negli organismi superiori si avranno varie possibilità di risposta adattativa tanto (nel breve termine) in ambito epigenetico e fenotipico, quanto (nel medio lungo-termine) a livello di genotipo [quindi, in ultima analisi, maggior **evolvability**: maggiori potenzialità adattative ed evolutive, specie in condizioni di *stress* ambientale e, di conseguenza, molecolare e genomico]¹¹.

La **seconda** riflessione (già in parte evidenziata da Steven Rose) è che le **prime tappe del processo ontogenetico** sono di gran lunga le più importanti: ogni sollecitazione imprevista (che in questo contesto significa ogni informazione diversa da quelle consuete da milioni di anni) nelle prime fasi del processo rischia di provocare effetti drammatici e persistenti nella programmazione di organi e tessuti [su un piano più concettuale potremmo tradurre questo dato dicendo che, **come in tutti i sistemi complessi**, le prime fasi del processo sono di gran lunga quelle più importanti e gravide di conseguenze per il successivo sviluppo del sistema].

Tanto il processo di sviluppo di un singolo organismo (*ontogenesi*), quanto l'intero processo bio-evolutivo (*filogenesi*) dovrebbero essere considerati come il prodotto di un dialogo/confronto tra le informazioni provenienti dall'esterno e quelle inscritte da milioni di anni nelle biomolecole e, in particolare, nel genoma. E per converso: ogni organismo dovrebbe esser considerato il prodotto tanto di un processo evolutivo collettivo, di lungo, anzi lunghissimo termine (*filogenesi*, il DNA rappresentando il prodotto meglio definibile e analizzabile di questo processo che ha avuto inizio 4 miliardi di anni fa), che di un processo di sviluppo individuale, di

breve periodo (*ontogenesi*: l'**epigenoma**, che rappresenta per così dire il *software* programmatico, formatosi in ogni cellula nel corso dei 9 mesi dello sviluppo embrio-fetale, rappresenta il prodotto di questo secondo percorso).

Come già accennato nel precedente capitolo, il discusso biologo ed evoluzionista tedesco Ernest Haeckel aveva proposto, circa 150 anni fa, la cosiddetta *Legge Biogenetica Universale*, secondo cui “*L’ontogenesi ricapitola la filogenesi*”, un’osservazione interessante, anche se solo in parte veritiera: è stato infatti sottolineato da vari scienziati che durante l’ontogenesi le diverse forme di vita non ripercorrono le tappe già percorse dalle forme di vita che le hanno precedute, ma, caso mai, le primissime fasi dello sviluppo. Collegando tra loro le riflessioni precedenti, potremmo dire che è vero piuttosto il contrario: che in miliardi di *processi ontogenetici* la *Natura* sperimenta infinite soluzioni concrete (adattative e creative) e che la *filogenesi* non è che una ricostruzione virtuale di questo percorso, costituito da *forme di vita* sempre diverse e (almeno in potenza) sempre meglio adattate. Per definire concettualmente tutto questo in modo più sintetico e icastico potremmo anche dire che sarebbe utile invertire la classica formula *evo-devo*, modificandola in *devo-evo*.

La **terza** riflessione concerne l’enorme importanza che l’**ambiente esterno** e in particolare le drammatiche modifiche di questo indotte dall’uomo, vengono ad assumere, nell’ambito del modello da noi proposto, tanto in ambito ontogenetico che filogenetico. Se è infatti vero che il processo ontogenetico è il prodotto di un continuo dialogo tra informazioni provenienti dall’esterno e informazioni inscritte nelle biomolecole dell’organismo in via di sviluppo, se le prime cambiano continuamente e/o troppo repentinamente, le seconde potrebbero non farcela a adattarsi a un cambiamento tanto repentino.

In questo senso abbiamo anche detto che l’**epigenoma** dovrebbe esser visto come una sorta di camera di compensazione in cui le informazioni provenienti dall’ambiente e, in particolare, dal microambiente uterino (dalla madre) e quelle inscritte nel DNA/*hardware* da milioni di anni si confrontano. È possibile ipotizzare che questo confronto possa tradursi sia in un assetto epigenetico/programmatico efficiente (in grado di garantire l’adattamento dell’individuo all’ambiente esterno), sia in un assetto programmatico inefficiente, foriero di un disadattamento e quindi di un *mismatch* tra organismo e ambiente esterno o tra *hardware* (DNA) e *software* (epigenoma).

A questo punto dovremmo cominciare a chiederci se e in che modo la trasformazione dell’ambiente operata dall’uomo e in particolare la drammatica trasformazione della composizione molecolare dell’atmosfera, della biosfera, delle catene alimentari e quindi della **comunicazione molecolare intercellulare (*cell signaling*) e tra gli organismi possano davvero svolgere un ruolo-chiave in ambito bio-evolutivo (*ontogenesi/filogenesi*) e essere all’origine dell’attuale trasformazione epidemiologica.**

A tal fine dobbiamo mettere a fuoco, sia pure in modo estremamente sintetico, alcuni snodi essenziali della storia della medicina, che ci aiutino a comprendere in che modo è cambiata la nostra percezione dell’**ambiente** quale fattore più o meno determinante di salute e malattia.

LA “RIMOZIONE” DELL’AMBIENTE QUALE DETERMINANTE FONDAMENTALE DI SALUTE E MALATTIA

L’attuale difficoltà di valutare in modo corretto il ruolo dell’ambiente e delle sue modifiche operate dall’uomo sulla salute umana e, in particolare, sulla trasformazione epidemiologica in atto è dovuta a varie cause. Per cercare di orientarci dobbiamo almeno accennare ad alcuni passaggi fondamentali nella comprensione e nella definizione stessa di malattia.

È quasi d’obbligo partire dal padre della medicina occidentale, **Ippocrate**, per il quale, notoriamente, il ruolo dell’ambiente nella determinazione di una condizione di salute o malattia era prioritario.

Molti storici della medicina concordano sul fatto che la concezione ippocratica del ruolo preponderante di un ambiente malsano nei confronti della salute umana abbia mantenuto una notevole influenza sulla medicina e sull’organizzazione sanitaria, almeno fino a quando, nella seconda metà del 19° secolo, la **teoria dei germi**,

essenzialmente legata ai nomi di Pasteur e Koch e in base alla quale all'origine delle principali malattie poteva essere individuata (e potenzialmente curata) una specifica causa microbica, non soppiantò l'antica **teoria dei miasmi**, secondo cui la causa principale delle malattie era appunto da ricercare in un ambiente inquinato.

Si trattò di un cambiamento di prospettiva veramente epocale, che indubbiamente permise o comunque facilitò enormemente lo sviluppo della **medicina moderna** (cioè di una medicina strettamente legata alla biologia), ma che contribuì anche al progressivo distacco di questa da una visione più complessiva, **sistemica ed ecologica**, secondo cui una condizione di salute è sempre il prodotto di un corretto equilibrio della persona, intesa nel suo insieme (come unità di psiche, mente e corpo) interiore e con l'**ambiente**.

Ancora a metà dell'800, comunque, la *teoria dei miasmi* regnava incontrastata. Tanto più che era l'epoca della **prima rivoluzione industriale**, dei *neri mulini satanici* (*dark satanic mills*) di William Blake, degli operai magri, pallidi, consumati dal lavoro e appunto dai miasmi delle fabbriche e delle periferie industriali descritte da Friedrich Engels e dei bambini smunti e rachitici descritti da Charles Dickens. Gli scritti di Engels, in particolare, ci raccontano di come nelle periferie delle città industriali i tassi di mortalità fossero più che doppi rispetto a quelli dei quartieri borghesi: nel 1840 l'aspettativa di vita per le classi lavoratrici inglesi era di 25 anni, quella delle classi agiate di 50: tubercolosi, tifo, febbre emorragica dominavano. Lo stesso Engel scriveva, nel 1845, le seguenti parole, che rappresentano quasi un manifesto della *teoria dei miasmi*:

“Tutte le sostanze vegetali e animali in putrefazione producono gas decisamente dannosi per la salute, e se queste emanazioni non trovano una soluzione che possa estinguerle, finiranno inevitabilmente con l'avvelenare l'atmosfera... le concentrazioni di sporcizia ristagnanti nei quartieri popolari delle grandi città hanno un effetto deleterio per la salute pubblica, proprio perché producono questi gas che provocano l'insorgere di malattie; lo stesso dicasi per le esalazioni degli scarichi e dei corsi d'acqua contaminata”¹².

Lo stesso Charles Darwin mostrava in alcuni scritti di dar credito alla *teoria dei miasmi*. Ma le cose stavano cambiando: in quegli stessi anni **Semmelweis** dimostrava come la febbre puerperale fosse la conseguenza della scarsa igiene dei medici e a Londra **John Snow** dimostrava, in quello che è tuttora considerato uno dei primi studi epidemiologici degni di questo nome, il nesso tra acqua contaminata e diffusione del colera.

Ma soprattutto arrivarono, come detto, le scoperte di **Koch** e di **Pasteur** e la cosiddetta **teoria dei germi** **soppiantò definitivamente quella dei miasmi**, contribuendo notevolmente al dominio del concetto di causa specifica in medicina, che avrebbe messo lungamente in ombra il ruolo dell'ambiente.

Nonostante alcuni ricercatori cominciassero a indagare sul nesso tra esposizione a prodotti chimici di sintesi (coloranti, solventi, pesticidi) che proprio verso la fine dell'800 cominciavano ad avere largo impiego e specifiche patologie come il cancro polmonare e quello della vescica; nonostante negli stessi anni le città cominciassero a popolarsi, grazie al lavoro pionieristico di Benz e Daimler, di motori a scoppio e cominciasse a diffondersi l'uso dei derivati del petrolio; nonostante già negli anni '20 del novecento si cominciasse a utilizzare il piombo come additivo delle benzine e a sintetizzare molecole tossiche come il DDT e altri composti organici del cloro, la *teoria delle tossine e dei germi* era sufficientemente forte da dominare il campo e da favorire il trionfo della visione riduzionista.

Solo negli anni '50 '60 dello scorso secolo, soprattutto dopo il drammatico episodio dello **smog di Londra** (1952) che in una settimana fece almeno 4000 morti; solo dopo l'altrettanto drammatica **catastrofe di Minamata** in Giappone (1956), nel corso della quale un impianto di materie plastiche disperse tanto mercurio nell'acqua della baia omonima, da causare l'avvelenamento dapprima di milioni di pesci, quindi di migliaia di uccelli marini, di donne e, per molti anni, dei loro bambini (per inciso il nesso tra dispersione del mercurio e gravi patologie del neuro-sviluppo, fu riconosciuto soltanto a distanza di nove anni, quando si verificò, ancora in Giappone, un incidente analogo); solo dopo che Rachel Carson denunciò nel suo capolavoro ***Silent Spring*** (*Primavera Silenziosa*) (1962) la strage di uccelli provocata dalla diffusione di DDT e di altri distruttori endocrini, che si erano concentrati, nel giro di pochi anni, nelle catene alimentari (la Carson documentò come la concentrazione di DDT e dei suoi metaboliti fosse di 0,02 ppm nell'acqua, di 5 ppm nelle alghe, di centinaia

di ppm nei pesci, di decine di migliaia di ppm nei gatti e negli uomini, con un tasso di bio-amplificazione da 1 a 100.000)... solo dopo questi gravi incidenti ed allarmi alcuni, pochi scienziati e intellettuali cominciarono a rendersi conto che l'uomo e il progresso tecnologico rischiavano di avvelenare, forse in modo irreversibile, la Natura.

Ma il libro della Carson divenne ben presto il bersaglio di molti intellettuali e scienziati organici al sistema, che ne capirono le potenzialità "rivoluzionarie". E l'ecologia stessa, che era una scienza tutto sommato giovane (nata, come abbiamo accennato, dalle riflessioni di quel discusso biologo ed evoluzionista tedesco, Ernst Haeckel, che aveva formulato la "*legge biogenetica fondamentale*"), venne etichettata come scienza sovversiva, dagli intellettuali direttamente o indirettamente legati agli interessi del Complesso militare-industriale che proprio allora, negli anni della Guerra Fredda, cominciava a controllare tutti gli aspetti della vita culturale, economica, sociale, politica e persino scientifica della società americana, come aveva invano cercato di denunciare lo stesso Presidente degli Stati Uniti, Eisenhower.

Negli anni '70 crebbero le preoccupazioni degli scienziati per la diffusione nell'ecosfera di migliaia di molecole chimiche di sintesi e di scarto potenzialmente in grado di danneggiare in modo irreversibile la Natura, perché fondamentalmente estranee ad essa [*xenobiotici*: molecole artificiali, non prodotte da un lento processo di coevoluzione biologica e molecolare, che gli organismi non sono in grado di metabolizzare e di scindere in molecole più semplici e meno tossiche, e che sono in grado di agire negativamente su centinaia di organismi diversi, interferendo con i loro sistemi recettoriali, sulle loro *pathways* biochimiche, intercellulari e i intracellulari e infine e soprattutto sul DNA e sulle sue modalità di espressione].

Nel 1972 si tenne la storica *Conferenza delle Nazioni Unite per l'Ambiente*, che per la prima volta mise l'umanità intera di fronte a questo nuovo, grande pericolo: una dozzina di molecole vennero definite con il termine di "**inquinanti persistenti (POPs)**", appunto in ragione della loro estrema tossicità e capacità di diffondere e persistere a lungo in ambiente, in particolare nell'ambito della biosfera, grazie a processi di bio-accumulazione (all'interno dei tessuti vegetali e animali) e di bio-magnificazione (all'interno delle catene alimentari)¹³.

Sempre negli anni 70 la rivista *The Ecologist*, diretta da una delle figure mitiche del movimento ecologista internazionale, Teddy Goldsmith, pubblicò lo studio *Un progetto per la sopravvivenza* e il *Club di Roma* la famosa inchiesta sui *Limiti dello sviluppo*. Da allora la consapevolezza dei rischi legati all'inquinamento chimico dell'atmosfera, della biosfera, delle catene alimentari andò crescendo.

Ma divenne sempre più potente anche lo schieramento dei difensori ad oltranza del Sistema e del modello di sviluppo dominante (e la loro influenza divenne via, via più capillare, sulla società, sulle istituzioni, sugli strumenti stessi di controllo, sugli organi di stampa e persino sulla scienza in senso lato). Uno dei principali risultati di tutto questo è certamente l'enorme sproporzione tra **la continua immissione diffusione in ambiente di molecole tossiche** e le scarse risorse e i deboli strumenti nelle mani di chi cerca, a vario livello e in vario modo, di limitare i rischi connessi a questo "inquinamento globale" sempre meno visibile, ma sempre più pervasivo e diffuso a tutto il pianeta [basterebbe a questo proposito ricordare gli studi recenti, che hanno dimostrato concentrazioni estremamente elevate di interferenti endocrini e, più in generale, di inquinanti organici persistenti (i succitati POPs) nei pesci, nelle foche, negli orsi polari e, di conseguenza, tra gli eschimesi e gli altri abitanti della regione artica¹⁴].

Gli effetti principali di questa sproporzione di mezzi e di potere sono, insomma, la nostra impotenza e persino la nostra ignoranza in materia: basta dire che delle oltre **100.000 molecole di sintesi** che abbiamo immesso sul mercato negli ultimi decenni (per non parlare delle ancora più numerose molecole tossiche prodotte accidentalmente, come scarti dei processi industriali e termo-chimici in genere) e che, come detto, rischiano di interferire con i più fini meccanismi biochimici e segnaletici propri di tutti gli organismi viventi, la stragrande maggioranza non è mai stata neppure sottoposta a adeguati test di tossicità... mentre di appena un migliaio conosciamo alcuni meccanismi di tossicità e alcuni possibili effetti dannosi sulla salute umana (e probabilmente ne disconosciamo molti altri).

È anzi importante sottolineare fin da adesso come la **tossicologia tradizionale** non possa che sottovalutare gli effetti sulla salute umana di molte di queste sostanze: *in primis* per il fatto che le nostre comuni modalità di valutazione sono, quasi inevitabilmente, legate alla dose, mentre è sempre più evidente che molte di queste sostanze tossiche e persistenti, sono pericolose anche e a volte soprattutto a dosi infinitesimali, *sia* in ragione dei loro specifici meccanismi d'azione, sia per il fatto *che* dosi più alte danneggiano seriamente le cellule, costringendole a complesse riparazioni del genoma o ad avviare il programma di morte cellulare programmata, mentre appunto le dosi minime quotidiane sembrano poter produrre un accumulo di micro-lesioni a carico delle principali biomolecole e, in particolare, di epimutazioni (cioè di modifiche epigenetiche minimali ma significative in grado di trasmettersi da una generazione cellulare all'altra).

Per questi e per molti altri motivi è sempre più evidente che a sottovalutare i rischi connessi a un inquinamento sempre più globale, capillare e invisibile non sono soltanto gli scienziati e i tecnici per così dire "organici" al sistema, ma persino alcuni tra i maggiori e più competenti esperti della materia. E questo appunto a causa degli stessi **modelli** di studio messi finora in campo o comunque utilizzati per comprendere e valutare gli effetti dell'inquinamento stesso.

Può essere utile, a questo proposito, almeno accennare a un modello interpretativo assai ampio, che è di fatto accettato anche da ecologisti e scienziati di chiara fama. Per semplicità lo chiameremo **Modello TM** dal nome del noto epidemiologo Tony McMichael, autore di studi importanti su questi argomenti¹⁵, che lo ha spesso utilizzato nelle sue riflessioni.

Nel Modello TM vengono prese in considerazione tre diverse fasi, ma potremmo anche dire tre diverse modalità, con cui l'inquinamento ha interferito e, in parte ancora interferisce, sulle società umane e in particolare sulla nostra salute.

In pratica vi si ipotizza una **prima fase (A)** nella quale gli esseri umani subiscono gli effetti di un inquinamento essenzialmente legato all'utilizzo domestico del fuoco e al limite all'uso di alcune specifiche sostanze: questa fase potrebbe essere definita **preindustriale** e tra le sostanze note per aver causato gravi danni alla salute, in particolari momenti e contesti, potremmo citare il **piombo**, il cui largo utilizzo per la costruzione di tubature e utensili vari, potrebbe aver determinato, secondo alcuni storici, una sorta di inquinamento di massa ai tempi dell'impero romano, contribuendo addirittura alla sua fine¹⁶.

La **fase (B)** sarebbe quella caratterizzata dal **grado massimo inquinamento chimico** e coinciderebbe, in gran parte, con la fase iniziale dello sviluppo industriale, per così dire selvaggio: l'inizio dell'ottocento in Inghilterra e in parte dell'Europa, gli anni successivi alla rivoluzione russa nei territori dell'impero sovietico e adesso nel cosiddetto terzo mondo, caratterizzato da uno sviluppo industriale tardivo, imposto dalle potenze neo-coloniali e assolutamente non regolamentato da normative efficienti, a tutela dell'ambiente e della salute dei lavoratori e delle popolazioni.

La **fase (C)**, infine, sarebbe caratteristica delle **società post-industriali, tecnologicamente più avanzate e caratterizzate da un progressivo controllo delle emissioni inquinanti** e da una riduzione dell'esposizione a queste, tanto dei lavoratori che delle popolazioni (anche in ragione dello spostamento nei paesi in via di sviluppo di alcune delle attività più inquinanti). Anche questa terza fase avrebbe comunque le sue ricadute negative, in parte locali (elevata produzione e modalità dannose di smaltimento di rifiuti urbani e industriali), in parte globali: pressione sulla biosfera con riduzione progressiva della biodiversità e delle disponibilità alimentari (per il rapido consumo del suolo e del patrimonio zootecnico e ittico), riduzione dello strato di ozono, accumulo di gas-serra in atmosfera, piogge acide, alterazioni climatiche ecc.

È importante notare che le tre fasi non andrebbero considerate soltanto in senso *diacronico*, come stadi diversi di inquinamento in società più o meno "sviluppate", ma anche in senso *sincronico*, nella misura in cui, ad esempio, nelle società più industrializzate le classi più povere e gli emarginati vivono in condizioni di inqui-

namento ancora peggiori, caratterizzate, per così dire, dal sommarsi di alcuni aspetti propri di tutte e tre le fasi considerate: inquinamento *indoor* tipico della fase (A), esposizione significativa a inquinanti chimici, specie in ambito occupazionale, tipica della fase (B) e, ovviamente, inevitabilmente, esposizione agli effetti globali (climatici ecc..) provocati dallo sviluppo umano globale (fase C).

È innegabile che il Modello TM abbia una sua validità, ma è altrettanto innegabile che esso presenti alcuni limiti fondamentali, strettamente connessi a quanto abbiamo precedentemente detto intorno alla diffusione sempre più capillare e planetaria di nuove molecole di sintesi, per la gran parte poco note e quindi difficili da individuare, studiare, normare.

È insomma importante sottolineare che se una certa differenza esiste nell'esposizione a inquinamento chimico-fisico tra le popolazioni che vivevano nel periodo preindustriale e quelle attuali, sarebbe **ingenuo pensare che le poche e del tutto insufficienti normative messe in campo negli ultimi decenni possano realmente preservare gli abitanti del I mondo dagli effetti di un inquinamento così onnipervasivo.**

Sono, ad esempio, sicuramente significativi e documentati gli effetti positivi della riduzione dell'utilizzo di piombo tanto in campo idraulico, che per la produzione di vernici, che come additivo ai carburanti fossi. Ma è anche vero che alla riduzione del piombo nell'atmosfera delle nostre città ha fatto seguito l'incremento di un'altra molecola cancerogena come il **benzene**; è anche vero che il piombo penetrato nei tessuti umani e animali in genere è destinato a rimanerci per decenni (secondo alcuni autori addirittura per oltre un secolo); ma soprattutto è innegabile che per ogni agente chimico o fisico (CEM, radiazioni ionizzanti) del quale riusciamo a dimostrare la pericolosità per la salute umana e ad ottenere (con enorme fatica e dopo anni o decenni di vere e proprie lotte) la riduzione della produzione o dell'immissione in ambiente, se ne inventano o producono centinaia di altri, spesso non meno tossici e pericolosi, tanto per noi che per le future generazioni, che come cercheremo di dimostrare rischiano di essere le vere vittime della diffusione planetaria di agenti inquinanti.

Si tratta evidentemente di un problema maggiore, che non è assolutamente contemplato nel Modello TM e che lo indebolisce notevolmente, trattandosi di molecole di sintesi (i POPs, gli interferenti endocrini in genere, farmaci e pesticidi) che possono interferire a tutti i livelli sui recettori cellulari e nucleari, sulle principali *pathways* intracellulari, sulla segnaletica intercellulare, sull'espressione genica e ancora sulla regolazione di tutti i sistemi omeostatici che sovrintendono al buon funzionamento del nostro organismo e, soprattutto, con il *fetal programming*.

Se anche è vero, insomma, che l'esposizione agli inquinanti tradizionali è diminuita nel Nord del mondo negli ultimi decenni, la situazione è del tutto opposta per quanto concerne questi nuovi inquinanti che sono, per la gran parte, ancora più pericolosi dei precedenti (come detto, infatti, le molecole di sintesi e quindi "nuove" per i nostri sistemi di difesa, di riconoscimento e segnaletici sono già oltre 100mila e vanno continuamente ad aumentare).

E ancora: nelle nostre città e nelle nostre case aumenta di giorno, in giorno l'esposizione collettiva a tutta una serie di altri e "nuovi" agenti inquinanti in grado di attivare gli stessi meccanismi fisiologici difensivi e reattivi e persino di agire sulle *pathways* intracellulari e, per via epigenetica, sul DNA: è sufficiente citare, ad esempio, il **particolato ultrafine** e le **nanoparticelle** emesse in grande quantità dai motori *diesel* e da inceneritori e altri impianti industriali e che, come vedremo, agiscono sia come attivatori di *stress* ossidativo e di processi infiammatori locali e sistemici, sia come vettori di altri inquinanti pericolosi all'interno dei nostri organi, tessuti, cellule. Ma anche le **radiazioni non ionizzanti** che sono sempre più diffuse e diversificate (per ciò che concerne potenza e frequenza) e che molti (anche tra gli esperti) continuano a reputare agenti inquinanti poco pericolosi in quanto dotati di energia insufficiente a danneggiare le biomolecole e, in particolare, il DNA, mentre si accumulano gli studi epidemiologici e sperimentali che dimostrano il contrario (mostrando, ad esempio, come campi elettromagnetici di determinate frequenze, utilizzate dalla telefonia mobile, possano interferire con i meccanismi fini dell'espressione genica, attivando ad specifiche sequenze geniche, interferendo con l'attività di oncogeni e geni oncosoppressori, inducendo, dopo pochi minuti di esposizione, l'espressione di proteine segnale e in particolare di proteine dello stress).

E infine: quel che non solo il Modello TM, ma la gran parte degli studi tossicologici non prendono praticamente in considerazione è il fatto che siamo tutti **contemporaneamente** esposti a molti di questi agenti inquinanti chimici (xenobiotici, metalli pesanti) e fisici (campi elettromagnetici, particolato ultrafine) che spesso agiscono **in modo sinergico sugli stessi bersagli cellulari e molecolari**.

Tutti problemi che assumono un rilievo ancora maggiore (come vedremo nel prossimo capitolo) se a essere esposti in modo sempre più continuo e precoce sono gli organismi in via di sviluppo: embrioni e feti, ma anche bambini in genere.

Ma per meglio capire quanto sia difficile oggi tornare a una visione più **ecologica e sistemica**, potremmo dire veramente **ippocratica** della medicina - è anche necessario capire come si sia andato affermando l'**approccio meccanicistico e riduzionista**, che caratterizza, nel bene e nel male, la medicina occidentale moderna.

L'AFFERMARSI DI UN APPROCCIO MECCANICISTA E RIDUZIONISTA

Diciamo subito che un ruolo chiave lo ha svolto, in questo ambito, l'affermarsi, nel '600, della filosofia di Descartes, tutta incentrata su due concetti base: il **dualismo** anima-corpo e il **meccanicismo**. È un dato di fatto che il dominio della filosofia cartesiana abbia convinto i medici a concentrarsi sempre di più sul **corpo** come **macchina**, mettendo in secondo piano gli aspetti **psicologici e ambientali** quali fondamentali determinanti di malattia. Come è un dato di fatto che da allora la biologia e le altre scienze naturali sono diventate la base di una scienza (bio)medica caratterizzata da un crescente **riduzionismo**: cioè dalla convinzione che il modo più corretto per studiare e per comprendere la natura e in particolare gli organismi viventi consista nel **ridurli in componenti sempre più minute e nello studiare le interazioni chimico-fisiche tra queste**. È appunto in questo modo che la biologia e la scienza medica si sono andate via, via concentrando sullo studio dei singoli tessuti, delle cellule e infine delle bio-molecole.

Una delle più note ricostruzioni critiche di questa vera e propria deriva culturale scientifica è, certamente, quella proposta da Fritjof Capra in *Il punto di svolta*. A sostegno della sua tesi Capra cita il trattato polemico *L'Homme Machine* dell'illuminista francese La Mettrie, che addirittura supera il dualismo anima-corpo di Cartesio, affermando che l'uomo al pari di tutti gli altri animali altro non è se non una **macchina**, paragonabile (in modo non dissimile al cosmo newtoniano) a un **orologio**, *ossia un insieme di molle che si caricano le une con le altre, senza che si possa dire da quale punto del cerchio umano la natura abbia cominciato*¹⁷. Discorso ripreso pari, pari da Joseph Needham che, ancora nel 1928, scrive: *“Il meccanicismo e il materialismo sono a fondamento del pensiero scientifico... Io non accetto affatto l'opinione che i fenomeni della mente non siano suscettibili di una descrizione fisico-chimica. Tutto ciò che noi sapremo scientificamente di loro sarà meccanicistico...”*¹⁸

È anche utile ricordare come praticamente tutti gli sviluppi essenziali in campo biomedico si siano verificati nell'800: non solo la **teoria dell'evoluzione**, ma anche la nascita dell'**embriologia** moderna, della **citologia**, della **microbiologia** e infine delle **leggi dell'ereditarietà** (anche se queste furono notoriamente riscoperte solo nel primo novecento, portando alla fondazione della moderna **genetica**). È estremamente importante almeno accennare ad alcuni di questi sviluppi. Partendo da quella che è stata certamente l'idea più rivoluzionaria in campo biologico: l'**idea di evoluzione**.

È importante ribadire, ancora una volta, come il vero fondatore della biologia moderna (probabilmente lo stesso termine biologia gli è dovuto), ma soprattutto il primo a proporre un modello proto-scientifico di evoluzione sia stato il francese **Jean Baptiste de Lamarck**, il quale ipotizzò che gli **esseri viventi si vadano trasformando in conseguenza delle pressioni ambientali** e che **almeno alcune di queste trasformazioni acquisite possano essere trasmesse alla prole** (un'idea, come detto, lungamente contestata dalla gran parte degli scienziati, ma che sembra riemergere prepotentemente negli ultimi anni, proprio grazie all'affermarsi dell'**epigenetica**).

Ma notoriamente il ruolo di fondatore dell'evoluzionismo scientifico viene oggi riconosciuto a **Charles Darwin**, il quale, pur riconoscendo, almeno in parte, il ruolo delle pressioni ambientali e la possibilità di una trasmissione intergenerazionale dei tratti acquisiti, propose un modello ben più astratto, ma più **in sintonia con la linea di pensiero dominante del suo tempo** (soprattutto nei paesi anglosassoni, che si avviavano ad assumere la *leadership* in campo scientifico, che oggi indiscutibilmente detengono), secondo cui la **condizione di fondamentale competizione** biologica tra le specie viventi (un'idea desunta dagli studi dell'economista Thomas Malthus), finisce col far sì che alcune trasformazioni, minime e fortuite, siano "premiare" dalla *Selezione Naturale* (un concetto o ente metafisico che Darwin inserì nel modello da lui proposto un po' come Adam Smith aveva inserito alcuni decenni prima l'idea di una *Mano Invisibile* che domina il Mercato).

È estremamente importante comprendere appieno quel che la "vittoria di Darwin su Lamarck" produsse nell'ambito della biologia e, come vedremo, nella medicina moderne. *In primis* perché se è vero che anche Darwin aveva una visione ecologica della Natura e, come detto, riconosceva, almeno sulla carta, il ruolo fondamentale dell'ambiente, è innegabile che il modello evoluzionistico da lui proposto è dominato da una **concezione astratta in cui il "caso" e un ente altrettanto "metafisico" come la Selezione Naturale assumono un ruolo fondamentale**.

Possiamo dunque ribadire che **l'ambiente, da Darwin in poi, assume un ruolo selettivo, più che di induttore delle trasformazioni**. Ed è un dato di fatto che **proprio in quegli anni l'ambiente perde di valore come fattore determinante nella salute umana**.

Abbiamo già accennato al fatto dell'ambiente aveva un ruolo fondamentale nella medicina ippocratica e in particolare in uno dei libri più significativi del Corpus ippocratico, quello intitolato *Dell'aria, delle acque, dei luoghi*¹⁹, che rappresenta un vero trattato di ecologia umana *ante litteram*, che correla strettamente le trasformazioni ambientali e la comparsa della malattia. E abbiamo già visto come, intorno alla metà dell'ottocento, **la teoria dei germi** abbia letteralmente soppiantato quella dei *miasmi*.

I postulati di Koch, ancora oggi insegnati nelle nostre università, rappresentarono un ulteriore passaggio in senso **riduzionistico**, spingendo a cercare una singola causa quale origine della malattia, ma soprattutto aprendo la strada a una concezione ancora una volta **competitiva** ed essenzialmente **bellicistica** (in senso antimicrobico), nonostante il suo contemporaneo Pasteur insistesse su una visione ecologica ed eco-sistemica, sottolineando **l'interdipendenza** tra tutti gli organismi e ricordando come persino i microrganismi debbano avere un ruolo importante negli ecosistemi.

Su queste basi Pasteur asserì che si sarebbe dovuto *da un lato* considerare la malattia come l'effetto di un indebolimento dell'organismo stesso e quindi di uno squilibrio interno che favoriva l'azione dei pochi microbi patogeni (una visione estremamente moderna e pienamente confermata nell'ambito della microbiologia attuale), *dall'altro evitare di trasformare la medicina moderna in una sorta di "lotta indiscriminata contro i microbi"*²⁰.

All'inizio del 20° secolo la tendenza riduzionista in biologia giunse a compimento. *In primis* grazie alla riscoperta da parte di alcuni biologi e soprattutto di William Bateson delle leggi di Mendel: nacque così la **genetica moderna** interamente basata sulla nozione della **natura chimico-fisica dei geni**, intesi come unità discrete di informazione, disposte in ordine lineare sui cromosomi (anche essi scoperti in quegli anni). L'idea che tutti i **caratteri** propri di un organismo fossero il prodotto di una trascrizione lineare di questi veri e propri "*atomi dell'eredità*" (**determinismo genetico**) ha dominato (e in parte ancora domina) l'immaginario scientifico degli ultimi decenni.²¹

Il passo immediatamente successivo fu compiuto da R.A. Fisher, J.B.S. Haldane e Sewall G Wright, considerati i padri fondatori della **Sintesi neo-darwinista**, che in pratica integrarono il modello evoluzionistico

darwiniano e il determinismo gene-centrico in un modello, tuttora dominante, tanto in ambito evoluzionistico che in ambito medico, secondo cui alcune *mutazioni stocastiche*, premiate dalla *selezione naturale* sarebbero alla base non solo dell'**evoluzione delle specie**, ma anche di alcune patologie e in particolare, come vedremo, del **cancro**

Negli stessi anni nel “mitico” laboratorio di Morgan gli studi sulle *Drosophila* e in particolare l'induzione sperimentale di mutazioni stocastiche mediante l'esposizione a radiazioni ionizzanti sembrarono confermare appieno i modelli teorici proposti dai genetisti: i risultati degli studi di Morgan e dei suoi collaboratori ebbero una tale eco che ancora oggi, i modelli di **valutazione del danno e del rischio** da esposizione a radiazioni ionizzanti si fondano su di essi.

Inoltre le riflessioni teoriche di un grande genetista come Morgan, che in quegli anni si convinse sempre di più del ruolo preponderante dei geni anche nell'ambito dell'ontogenesi, contribuirono a **separare ulteriormente la biologia evoluzionistica basata sulla genetica dall'embriologia** (un ulteriore grave errore che solo in parte la definizione della cosiddetta teoria *evo-devo* riuscirà, come detto, a superare).

Negli anni 30 un'ulteriore fattore determinò la deriva riduzionistica della biologia e della genetica: il fatto che i principali modelli concernenti la natura fisica dei geni e le modalità in trasmissione dell'informazione in essi contenuta, furono messe in campo da alcuni dei maggiori fisici teorici dell'epoca e in particolare da uno dei padri fondatori della fisica quantistica, **Erwin Schrodinger**, il quale in un famoso opuscolo, intitolato *What is Life*, che fece il giro del mondo, propose che il **gene** fosse sul piano chimico-fisico una specifica sequenza molecolare in cui era racchiusa e codificata l'informazione ereditaria, aprendo di fatto **l'era della biologia molecolare**.

Le successive scoperte di **Pauling** sulla forma tridimensionale e sull'esatta sequenza lineare di aminoacidi nelle **proteine** e, soprattutto, la scoperta epocale, da parte di **Watson e Crick**, della **doppia elica del DNA** (1953) e della **sequenza lineare, a-periodica di nucleotidi** quale struttura molecolare portante dell'informazione genetica, fecero il resto.

Fu così che, come abbiamo cercato di spiegare nel nostro capitolo introduttivo, come talvolta accade nel mondo della scienza, una serie di brillanti scoperte, destinate a rivoluzionare nel giro di pochi anni il mondo della biologia, finirono col trasformarsi, illegittimamente, in una visione del mondo e persino in una metafisica determinista e riduzionista²², che ha condotto a una grave distorsione della ricerca in biomedicina.

CAPITOLO 2

INQUINAMENTO E TRASFORMAZIONI AMBIENTALI E SANITARIE

A questo punto, prima di andare avanti nella nostra inevitabilmente sommaria ricostruzione del modo in cui si sono andati delineando e modificando nel tempo i nostri modelli interpretativi e analitici concernenti la relazione tra uomo e ambiente e le possibili conseguenze sulla salute umana della drammatica trasformazione dell'ambiente e in particolare della composizione chimico-fisica dell'ecosfera indotta da *Homo Sapiens* in pochi decenni (un lasso di tempo, lo ripetiamo, del tutto insignificante in ambito bio-evolutivo), dobbiamo cercare di spiegare, almeno a grandi linee, in cosa consista questa trasformazione.

Per inquadrare il problema in termini scientificamente accettabili è utile richiamare alcuni concetti basilari, come *ecosfera*, *cicli bio-geo-chimici*, *inquinamento*. E ricordare come esista un **continuo flusso** di **energia-materia** tra i vari comparti dell'ecosfera e come, in ambito chimico-fisico, ogni trasformazione energetica abbia un "costo": nel senso di una perdita di qualità energetica e quindi di **irreversibilità** del processo e di un fatale incremento di **entropia/disordine**.

In termini generali quanto sopra enunciato può essere sintetizzato - nell'ambito della termodinamica classica - in questi termini: non solo non si può "creare" nuova energia, ma ogni trasformazione comporta una dissipazione e l'irreversibilità di tali processi è dovuta alla definitiva inutilizzabilità della quota di energia trasformata in calore. Una delle conseguenze di tale principio è che ogni processo locale di accelerazione contribuisce all'incremento dell'*entropia/disordine* globale.

Non solo la biosfera, ma l'intera **ecosfera** consiste di un flusso di eventi e quindi di energia/materia che continuamente si trasforma. Sul piano chimico-fisico questa continua trasformazione risulta -almeno nelle attuali rappresentazioni, nate nell'ambito della moderna termodinamica- dispendiosa: in un sistema chiuso/isolato (e su un piano teorico l'intero "universo visibile" può essere concepito come tale) l'energia totale è costante e l'entropia (il **disordine**) in continuo aumento. In ambito biologico il discorso è più complesso, in quanto l'**informazione** inserita nel sistema permette ad alcuni sottoinsiemi di evolvere, apparentemente in senso contrario, costruttivo e anti-entropico.

La salvaguardia dell'informazione genetica inscritta, grazie a un complesso sistema di "scrittura" nel DNA (ma anche in altre bio-molecole complesse) "sfida" l'incremento generale del caos (entropia). Secondo alcuni un paradigma evolutivo-antientropico sarebbe proponibile anche in ambito chimico-fisico: persino la sintesi stellare degli elementi chimici costituenti la materia dell'universo potrebbe essere interpretata in tal senso²³.

Da un punto di vista **ecologico** i **cicli (bio)geochimici** sono le catene o meglio i flussi di energia/materia in cui molecole ed atomi, spostandosi continuamente tra i **comparti dell'ecosfera** (litosfera, idrosfera, atmosfera, biosfera), cambiano le loro modalità di aggregazione. Il **turnover** degli elementi varia notevolmente all'interno dei vari comparti: è lentissimo nella litosfera, più rapido nell'idrosfera, veloce in atmosfera (in rapporto al mutare rapido e continuo delle condizioni chimico-fisico locali e globali) e soprattutto in **biosfera**, dove sono in atto meccanismi attivi (*cibernetici*) di trasformazione estremamente complessi e sofisticati. È un dato ormai riconosciuto non solo da scienziati ed esperti, ma anche dalle maggiori istituzioni politiche, economi-

che e sanitarie internazionali che la “rivoluzione industriale” e la progressiva globalizzazione di un modello di sviluppo essenzialmente basato sul **consumo di combustibili fossili** e più in generale di energia-materia (e quindi su una drammatica accelerazione dei processi di degradazione entropica) ha cambiato pericolosamente e in meno di due secoli gli equilibri dell’ecosfera e della *climatosfera*.

Tutti gli scambi di energia – quelli che avvengono nei fenomeni naturali e quelli che l’uomo produce artificialmente - rispettano le due **leggi termodinamiche** fondamentali. La prima di queste afferma che l’energia complessiva si conserva (non si crea né si distrugge: si trasforma); la seconda che l’energia tende a degradarsi, a diventare sempre meno utilizzabile (direzionalità/irreversibilità del processo; incremento del disordine/entropia). L’energia del sistema, dunque, si degrada, trasformandosi in calore, mentre non è possibile il processo inverso. Ne consegue, tra l’altro, che non è possibile costruire una **macchina termica** che trasformi integralmente il calore in lavoro. Una parte del calore che il sistema assorbe è perduta per sempre. Il rendimento di una macchina è dato dal rapporto tra l’energia utilizzata e l’energia fornita, ovvero nel caso delle macchine semplici tra il lavoro in uscita e quello in ingresso. È ovvio quindi che il rendimento non può mai essere uguale a uno, tranne che nelle macchine ideali²⁴.

Ogni forma e tipo di **combustione** genera CO₂ in quantità tale da alterare gli equilibri dell’ecosfera (e in particolare della *climatosfera*). Ogni anno immettiamo in atmosfera una quantità di CO₂ doppia rispetto alla quantità che mari e continenti sono in grado di riassorbire. Più del 50% della nostra *Impronta Ecologica* viene dalle emissioni di carbonio (in pratica la superficie di mare e di terra che ci vorrebbe per assorbire il carbonio che emettiamo è aumentata del 700% dal 1961)²⁵. Ma soprattutto **ogni forma di combustione produce inquinamento, accelerando enormemente il processo di degradazione dell’energia/disgregazione della materia e immettendo in ambiente grandi quantità di molecole in grado di alterare gli equilibri chimico-fisici e bio-chimici dei vari comparti. Ogni forma di combustione (di metano, petrolio, carbone, rifiuti) produce scorie: ossidi di azoto e di zolfo, ma anche metalli pesanti, IPA, molecole diossino-simili, particolato fine e ultrafine.**

Con il termine generico di **inquinamento chimico** ci si dovrebbe dunque riferire ad un’alterazione sempre più profonda e capillare degli equilibri dell’ecosfera, che consegue essenzialmente: a una sostanziale **accelerazione delle velocità di flusso/turnover molecolare tra i vari comparti** (collegabile all’incremento della temperatura ed alla immissione di molecole e ioni dotati di attività catalitica) ed alla **introduzione sempre più massiva di migliaia di molecole artificiali (xenobiotici)** che le specie viventi (organismi/microrganismi) non riescono a processare/disgregare e che, in alcuni casi, sono in grado di innescare in essi uno **stress cibernetico (informazionale)**.

I rapidi progressi della biologia molecolare e in particolare delle cosiddette **omics** (genomica, epigenomica, trascrittomica, proteomica) stanno aprendo la strada a una rivoluzione complessiva della biologia e della medicina: è sempre più evidente che non solo gli acidi nucleici, ma anche le proteine e in un certo senso tutte le molecole organiche sono portatrici di **informazioni** che vengono tradotte in specifici segnali, che a loro volta determinano l’attivazione o il blocco di cascate biochimiche cellulari e intercellulari. Molte molecole “**xeno-biotiche**” (prodotti di sintesi o sottoprodotti di reazioni termochimiche) sembrano poter produrre effetti dannosi su singoli organismi e/o su interi ecosistemi, interferendo appunto con i suddetti meccanismi.

L’equilibrio chimico-fisico dei vari comparti dell’ecosfera - in particolare nell’ambito della bio-sfera (e all’interno dei singoli organismi viventi) - è mantenuto da complessi e delicati **meccanismi di feed-back (retroazione)**. Tali meccanismi di **auto-controllo automatico** sono di due tipi: a **retroazione negativa** e a **retroazione positiva**. I primi tendono a riequilibrare il sistema in caso di (moderate) sollecitazioni esterne, che produrrebbero alterazioni dell’equilibrio; i secondi entrano generalmente in azione nel caso in cui le sollecitazioni siano tali da richiedere la creazione di un nuovo equilibrio (o se si preferisce: tendono ad incrementare le deviazioni e a

creare *instabilità* nel sistema stesso, che tenderà ad un nuovo stato di equilibrio).

In altri termini: se nell'ambiente avvengono cambiamenti tali da allontanare di molto il sistema dal punto di equilibrio, si crea una *retroazione positiva* o di fuga. Si ha cioè una spinta in senso *evolutivo*.

Se l'attuale *crisi dei sistemi omeostatici (retroattivi)* nell'ambito dell'atmosfera e della climatofera allarma gli scienziati, che prevedono, per i prossimi decenni, scenari catastrofici, difficilmente prevedibili/evitabili (es. *feed-back* positivo della CO₂, del metano e di altri gas serra) e se è la stessa complessità del mondo chimico-fisico (atmosfera/climatofera) a determinarne lo *status* di sistema soglia, in bilico tra *ordine* e *caos*, è importante riconoscere che i *sistemi biologici* (singoli organismi, ecosistemi, biomi/biosfera, genomi/genosfera), infinitamente più complessi e fluidi, corrono rischi (almeno) analoghi.

Tutto questo significa che in termini di *sostenibilità* l'impatto dell'attuale sistema di produzione, utilizzo-consumo-processamento di energia/materia oltre e più che in termini *economici* (*iper-consumo* delle risorse - energetiche, idriche, alimentari, genetiche - in relazione alle capacità rigenerative del sistema terra) andrebbe valutato in termini *ecologici* (e in particolare in termini di *impatto biologico/bioevolutivo e sanitario*)²⁶.

Se gli effetti dannosi di un simile *caos molecolare* sono già pesanti sulle cellule somatiche e quindi sugli organismi adulti, a destare maggiore allarme sono il bio-accumulo progressivo di tali molecole nelle catene alimentari e nei tessuti umani (e in particolare negli organismi femminili/materni); l'ormai documentata alterazione degli assetti epigenetici (programmatici dell'espressione genica di tessuti e organi fondamentali nell'ambito della relazione organismo-ambiente, quali sono i sistemi neuro-endocrino e immunitario) nei **gameti** e nello stesso **prodotto del concepimento**; il possibile trasferimento **trans-generazionale** di tali assetti epigenetici "*difensivo-reattivi*" che potrebbe interferire non solo con i processi di sviluppo dei singoli organismi (*ontogenesi*), ma addirittura sui processi evolutivi di intere specie (*filogenesi*)²⁷.

Nei prossimi anni *homo sapiens* dovrà **ridurre drasticamente** non soltanto il **consumo** delle risorse energetiche e materiali a sua disposizione, ma anche le grandi **fonti di inquinamento** – cioè di produzione e immissione rapida (es.: *inceneritori*) o più dilazionata nel tempo (es.: *discariche*) di molecole tossiche e inquinanti, che hanno dimostrato di poter alterare nel giro di pochi decenni i millenari equilibri dell'eco-biosfera.

Dovrebbe essere infatti chiaro a tutti come, su un piano ecologico e bio-evolutivo, i principali problemi derivino dalla continua accelerazione dei processi di consumo e trasformazione dell'energia-materia, che conferiscono all'intero sistema una **insostenibile accelerazione entropica** e dalla diffusione sempre più ubiquitaria di molecole di sintesi o di scarto, che hanno letteralmente invaso la biosfera e rischiano di innescare una **crisi biologica (bioevolutiva)** di dimensioni catastrofiche. Vedremo, infatti, come tali molecole, estranee ai nostri sistemi e codici segnaletici che sono il prodotto di miliardi di anni di coevoluzione, abnormemente persistenti²⁸, **bioaccumulabili** e **tossiche** (proprio a causa della incapacità, da parte di organismi e microorganismi, di riconoscerle e metabolizzarle) siano in grado di sollecitare (attivare o bloccare) in modo innaturale i nostri principali *network* biochimici intercellulari (neuro-immuno-endocrini) e cellulari (recettori membranari, cascate segnaletiche, fattori e cofattori di trascrizione) e di interferire con lo stesso assetto epigenetico e genetico dei nostri tessuti.

Prendiamo quale esempio emblematico il problema del cosiddetto **smaltimento dei rifiuti**: della rapida, quotidiana distruzione da parte di *homo sapiens* di milioni di tonnellate di "materiali post-consumo" che sono il prodotto di un'enorme quantità di lavoro (non solo umano) e di tecnologie spesso sofisticate. Una problematica **paradossale** e al contempo **paradigmatica** del nostro attuale stadio di evoluzione culturale e spirituale.

Problematica **paradossale** perché esisterebbe un unico modo, tutto sommato semplice, di risolvere il problema della produzione e smaltimento dei cosiddetti materiali post-consumo (o meglio ancora, post-utilizzo), consistente in una **corretta filiera** basata essenzialmente sulla regola delle cosiddette 4 R (Riduzione, Riutilizzo,

Recupero, Riciclo) e invece ci ostiniamo a procedere nella direzione diametralmente opposta, rischiando oltre tutto di danneggiare in modo irreversibile i delicati e complessi equilibri dell'ecosfera, che sono il prodotto di miliardi di anni di lenta co-evoluzione molecolare.

Ma problematica anche **paradigmatica**, che simboleggia perfettamente l'ultima e distruttiva fase di drammatica **accelerazione** impressa dall'uomo a tutti i processi naturali di trasformazione dell'energia/materia: dapprima, circa 10.000 anni fa (poco più di un minuto dell'"*anno cosmico terrestre*"), con la rivoluzione neolitica; ma soprattutto, circa due secoli fa (poco più di un secondo dell'"*anno terrestre*") con la **rivoluzione industriale e chimica**.

Non sarebbe forse neppure il caso di "scomodare la scienza" per inquadrare il problema: per capire che *disintegrare* quotidianamente milioni di tonnellate di materiali, formati in milioni di anni di lenta *aggregazione molecolare* è frutto della stessa follia che ci spinge a **bruciare e distruggere** a ritmi forsennati non soltanto le foreste attuali, che pure svolgono funzioni essenziali per il mantenimento della vita sulla terra, per trasformarle in materiali – carta da giornale, cartone per imballaggi – da **consumare** nel giro di pochi mesi o addirittura di pochi giorni, ma persino quanto rimane delle foreste ancestrali e che potrebbe rappresentare una riserva di energia fondamentale per le generazioni umane a venire; che seppellire in grandi buche scavate nel terreno o disperdere in ambiente, dopo averli bruciati in giganteschi forni, gli stessi manufatti che rappresentano il prodotto di questo enorme consumo di energia-materia è un comportamento irrazionale e irresponsabile; che stiamo letteralmente giocando con il fuoco.

In ambito biologico/bioevolutivo l'**inquinamento**, essenzialmente legato, dunque, all'incremento delle **combustioni**, agisce in modo duplice: sia indirettamente, per il tramite delle alterazioni chimico-fisiche globali, sia direttamente, come conseguenza della produzione ed immissione in ambiente e catene alimentari, di grandi quantità di **sostanze xeno-biotiche, metalli pesanti, particolato (ultra)fine**. La pericolosità (enormemente sottovalutata) di questi processi è essenzialmente legata alla loro natura **cumulativa e progressiva**, a sua volta connessa ad alcune caratteristiche basilari di molti *agenti inquinanti*:

- capacità di diffusione e persistenza in ambiente (per centinaia di chilometri e per mesi/anni) e organismi (tessuto osseo, tessuto adiposo etc.);
- capacità di penetrazione in organi e tessuti (pareti alveolari/circolazione sanguigna, endoteli, barriera ematocerebrale/cervello, placenta/feto);
- modalità di azione: interferenza con le principali bio-molecole (proteine, acidi nucleici) e con le principali *pathways* biochimiche (recettori membranari, trasduttori del segnale, recettori nucleari, fattori di trascrizione, enzimi e cofattori di modulazione epi-genetica);
- sinergismo: l'esempio emblematico essendo il particolato ultrafine, che, come detto, oltre ad agire da acceleratore e catalizzatore di reazioni ossidative e pro-infiammatorie, funge da veicolo ideale di molecole (epi) genotossiche all'interno di organi, tessuti, cellule, nucleo...

Abbiamo dunque chiarito come con il termine **inquinamento chimico** ci si debba essenzialmente riferire, in ambito ecologico/ecosistemico, al forzato, innaturale e sempre più massivo trasferimento di molecole ed altri agenti chimici da un comparto all'altro dell'ecosfera e al drammatico incremento dei processi di trasformazione termo-chimica, intenzionali (finalizzati alla produzione di sempre nuove molecole di sintesi) o accidentali (secondari a processi di produzione/trasformazione energetica). Abbiamo accennato al fatto che la produzione e immissione, quantitativamente e qualitativamente sregolata, di molecole e agenti chimici nei vari comparti dell'ecosfera, ne sta modificando in modo drammatico la composizione chimico-fisica e alterando i **cicli bio-geo-chimici**. Abbiamo anche sottolineato che, se gli effetti di tale squilibrio complessivo sono ormai evidenti nell'ambito della litosfera, dell'idrosfera e, soprattutto, dell'atmosfera/climatosfera, è proprio in ambito **biologico** che il problema rischia di manifestarsi in tutta la sua gravità. E questo per vari motivi: *in primis* a causa di un'alterazione dei meccanismi di **feed back** generali e specifici dei singoli organismi, ma anche per

un fenomeno, sempre più generalizzato, di *disorientamento informativo*.

I recenti progressi della biologia molecolare e della bio-informatica hanno infatti dimostrato che non soltanto gli acidi nucleici, ma anche le proteine e in un certo senso tutte le molecole organiche siano portatrici di **informazioni**, che vengono recepite dai recettori cellulari e nucleari e tradotte in specifici segnali, che a loro volta determinano l'attivazione (o il blocco) di cascate biochimiche cellulari e intercellulari e dell'espressione genica.

Alcuni scienziati estendono ulteriormente il *range* degli agenti fisici portatori di **informazione**: in un certo senso, infatti, persino singole particelle sub-atomiche e in particolare i **fotoni**, particelle/onde associate a tutte le radiazioni elettromagnetiche, possono essere rappresentati come minuscoli **pacchetti oscillanti di energia/informazione**, in grado di stimolare punti ben definiti del mosaico dei **fotorecettori** retinici, cellule altamente polarizzate, in grado di convertire l'energia luminosa in impulsi elettrici che, trasferiti al cervello, sono tradotti in **messaggi** visivi²⁹. Quanto abbiamo accennato intorno alla capacità di alcune farfalle di programmare in modo adattativo e predittivo il proprio fenotipo, durante il proprio stato larvale, agli stimoli luminosi e termici provenienti dall'ambiente consentirebbe di estendere ulteriormente la portata del discorso addirittura in **ambito evoluzionistico**.

Con il termine di **xenobiotico** si dovrebbe intendere, secondo alcuni autori, qualsiasi sostanza chimica che si trova in un organismo, ma che non è normalmente prodotta o che non dovrebbe essere presente in esso. Tuttavia sarebbe più utile riservare il termine *xenobiotici* per designare quegli inquinanti, come certi ritardanti di fiamma, plastificanti e molecole diossina-simili che non sono in linea di massima presenti in natura (e soprattutto negli organismi viventi) e che possono avere effetti dannosi sui sistemi biologici. È sempre più evidente che molte molecole **xenobiotiche** (che si tratti di prodotti di sintesi o di sottoprodotti di reazioni termochimiche) producono i loro effetti dannosi, tanto su singoli organismi quanto su interi ecosistemi, interferendo proprio con i suddetti sistemi informazionali che caratterizzano gli esseri viventi.

La categoria più nota, ormai abbastanza studiata e ben codificata, di sostanze in grado di agire in tal senso è quella dei cosiddetti *Interferenti o Distruttori Endocrini (EDCs)*: un termine in un certo senso riduttivo, legato al fatto che i primi *EDCs* studiati, ancora oggi tra i più noti, agiscono essenzialmente mimando o bloccando l'azione di vari ormoni. Sulla base di quanto suaccennato sarebbe forse più corretto usare il concetto, più generale, di **molecole mimetiche**.

Le maggiori preoccupazioni di ricercatori e studiosi in genere (pediatri, neuropsichiatri infantili, tossicologi, epidemiologi, endocrinologi...) derivano dalla constatazione che in concomitanza con la diffusione (nel corso di pochi decenni)³⁰ in ambiente e catene alimentari di tali molecole, spesso particolarmente persistenti e bioaccumulabili, si è registrato un incremento drammatico di patologie - malattie neuroendocrine, obesità, sindrome metabolica/insulinoresistenza/diabete II, disturbi della sfera genitale e riproduttiva, neoplasie endocrino-mediate, autismo, disturbi cognitivi e comportamentali dell'infanzia, patologie neuro-degenerative - alla cui patogenesi potrebbero non essere estranee tali sostanze (molte delle quali sono prodotti secondari di reazioni termochimiche, particolarmente significative in impianti come acciaierie, cementifici e inceneritori di rifiuti). Non meno importante è ricordare che questi e altri danni non sono appannaggio esclusivo della nostra specie, ma sono stati già segnalati in vari organismi ed **ecosistemi**³¹.

Segni particolarmente allarmanti di questo **inquinamento ubiquitario** e rapidamente progressivo dell'intera biosfera, sono la scomparsa o comunque la crisi di migliaia di specie diverse (alcune delle quali assolutamente essenziali agli equilibri stessi della biosfera e delle catene alimentari); lo *stress* e la pressione selettiva a cui sono sottoposti gli ecosistemi microbico-virali; lo stesso incremento, in ambito umano, di patologie immuno-mediate, neoplastiche, neuroendocrine e neurodegenerative, che rappresentano, a loro volta, il prodotto di uno *stress* (epi)genomico sempre più precoce e diffuso.

Particolare allarme ha destato, negli ultimi anni, la crisi drammatica delle api e di altri insetti **impollinato-**

ri³², che stanno letteralmente scomparendo in molte aree del pianeta. La drammaticità veramente *epocale* del problema risulta evidente, se si ricorda come circa l'84% delle specie vegetali coltivate in Europa e il 70% nel mondo dipendano dall'impollinazione. Tra i maggiori indiziati della scomparsa degli impollinatori sono i **pesticidi** e l'inquinamento atmosferico da **inquinanti industriali**: le api seguono infatti nella loro ricerca del nettare vere e proprie scie chimiche, emesse dai fiori stessi, e costituite da particolari idrocarburi. È stato di recente provato che l'inquinamento industriale interferisce pesantemente con la produzione e la diffusione in atmosfera di tali sostanze da parte dei fiori e che le api, che in epoca pre-industriale erano in grado di seguire questi particolari *segnali chimici* per chilometri, hanno difficoltà a recepirli già se poste alla distanza di 200 metri dalla sorgente³³.

L'IMPATTO SULLA SALUTE UMANA

Se per ciò che concerne l'impatto del sistema industriale e, in particolare dell'eccesso di "combustioni" sugli equilibri dell'atmosfera e della climatosfera, il problema essenziale è dato dalla **quantità totale** e continuamente crescente delle emissioni di CO₂ e degli altri gas serra, discorso analogo dovrebbe esser fatto, e a maggior ragione, per ciò che concerne gli effetti che la **diffusione sempre più ubiquitaria** di molecole (epi) genotossiche in ambiente, la loro biomagnificazione all'interno delle catene alimentari e il bio-accumulo nei tessuti (in particolare materni e fetali) rischia di avere sulla biosfera e in particolare sulla salute umana.

Il principale problema che le miriadi di fonti di inquinamento disseminate su tutto il pianeta rischia di arrecare alla salute nostra e delle generazioni future è infatti rappresentato dal carico di molecole tossiche³⁴ molte delle quali sono prodotti accidentali di **combustioni incomplete** - che si sono accumulate nel nostro corpo nel corso degli anni e che l'EPA (*Environmental Protection Agency*) alcuni anni fa definì con i termini **Body Burden** (in genere, tradotti in italiano, con i termini *carico chimico* o *zavorra chimica corporea*).

Un problema ancor più drammatico è rappresentato dal **passaggio** e dal possibile **accumulo progressivo** dei più persistenti tra questi inquinanti, da una generazione all'altra. Basti ricordare come il piombo possa accumularsi nei nostri tessuti osseo e adiposo per decenni e come l'entità del suo passaggio al feto sia ormai ben documentata: al contrario delle prime *reviews* sul tema, che erano piuttosto rassicuranti circa la capacità dell'organismo umano di liberarsi rapidamente dal metallo³⁵, la letteratura più recente ne ha infatti documentato l'accumulo in vari organi e tessuti e, soprattutto, l'entità del rilascio dai tessuti materni e il passaggio al feto nel corso della gravidanza³⁶.

Discorso assolutamente sovrapponibile può esser fatto per diossine, PCBs e altri pericolosi Inquinanti Organici Persistenti³⁷ prodotti in grande quantità da acciaierie, inceneritori di rifiuti e altri impianti industriali³⁸.

Numerosi sono ormai, in tutto il mondo, i progetti finalizzati alla valutazione del *carico chimico corporeo*, concernente singole popolazioni e in particolare donne, bambini, embrioni/feti, che hanno fornito risultati drammatici: tra i più noti sono gli studi portati avanti dai ricercatori dell'**Environmental Working Group**³⁹ che hanno documentato la presenza di centinaia di sostanze tossiche, mutagene e cancerogene nel sangue, urine, latte materno, sangue cordonale⁴⁰ di soggetti di tutte le età⁴¹.

È inoltre ormai assodato che l'esposizione agli **inquinanti ambientali inalati, o assunti per via alimentare dalla madre** nel corso della gravidanza, può interferire sull'assetto epigenetico e quindi sulla differenziazione delle cellule dell'embrione e del feto, influenzando negativamente la programmazione e lo sviluppo di vari organi e tessuti e aprendo la strada a patologie metaboliche, neuroendocrine, neurodegenerative e neoplastiche, destinate a manifestarsi dopo decenni, **in età adulta**⁴². E sempre più numerosi sono gli studi che documentano e illustrano i meccanismi che legano tali alterazioni epigenetiche (programmatiche) dei tessuti fetali a numerose e gravi patologie - malattie cardiovascolari⁴³, endocrine⁴⁴, neurologiche⁴⁵, neoplastiche⁴⁶, immunomediate⁴⁷, disturbi della sfera riproduttiva⁴⁸ - tutte, come già accennato, in **rapido incremento in tutto il mondo**.

La particolare vulnerabilità dell'embrione e del feto è ovviamente legata al fatto che negli organismi in via di sviluppo tessuti ed organi sono in via di rapida formazione e trasformazione. Non stupisce quindi che il problema della accentuata sensibilità ad agenti e *fattori inquinanti* (e in particolare alle suddette *molecole mimetiche*) riguardi, più in generale, l'**età infantile**, anche a causa della relativa immaturità di organi, apparati e sistemi di difesa (*in primis* il sistema immunocompetente e l'apparato neuroendocrino).

Tale discorso vale in particolar modo per il sistema nervoso centrale del bambino, la cui sensibilità a fattori esogeni (inquinanti chimici ma anche fisici, compresi i campi elettromagnetici) è legata sia alla immaturità delle barriere fisiologiche, che ad un periodo di sviluppo particolarmente prolungato (e quindi a una "*finestra di esposizione*" particolarmente estesa)⁴⁹. Vasta eco ha avuto il veemente appello (sul quale avremo modo di tornare nella presente monografia), lanciato alcuni anni fa dalle pagine di *The Lancet* da alcuni ricercatori della *Harvard School of Public Health*⁵⁰, che hanno parlato di una **Silenziosa Pandemia** di autismo, dislessia, ADHD, difficoltà di apprendimento... che affliggerebbe oltre il 10% dei bambini del mondo industrializzato e che sarebbe connessa alla **diffusione ubiquitaria** di agenti inquinanti - metalli pesanti (mercurio, piombo, arsenico), molecole diossino-simili, IPA, toluene e altre centinaia di molecole tossiche, solo in minima parte note e monitorate - in atmosfera e catene alimentari; alla loro inalazione e/o ingestione da parte di milioni di donne, seguita da lento bioaccumulo in vari tessuti (in particolare nel tessuto adiposo); alla loro mobilitazione e trasmissione a embrione e feto⁵¹.

Numerose ricerche hanno dimostrato gli effetti neurotossici diretti e, soprattutto, la capacità di interferire pesantemente - già alle **concentrazioni usuali** in ambiente, catene alimentari e tessuti umani - sullo sviluppo del sistema nervoso fetale, di alcuni inquinanti ubiquitari (continuamente emessi da mezzi di trasporto e grandi impianti industriali e in particolare dagli inceneritori) quali metalli pesanti⁵² e idrocarburi poliaromatici (IPA)⁵³, inseriti nella lista dei maggiori indiziati per la *pandemia silenziosa*.

L'esempio dei metalli pesanti è emblematico: emessi dagli impianti e immessi in ambiente rimangono (specie se legati al particolato ultrafine) lungamente in atmosfera, spostandosi per chilometri, e penetrano nel nostro organismo seguendo tre vie: per inalazione e passaggio nel sangue; per via alimentare; per traslocazione diretta al cervello attraverso i nervi cranici.

Quella che abbiamo proposto è ovviamente appena un'introduzione al tema complesso, e fin qui enormemente sottovalutato dalla medicina ufficiale, dei possibili effetti sulla salute umana dell'accumulo progressivo di inquinanti in tutti comparti dell'ecosfera.

Non ci è possibile, in questa sede, trattare in modo sistematico e approfondito i principali **meccanismi patogenetici** legati alla esposizione acuta e soprattutto cronica a **metalli pesanti, interferenti endocrini, particolato ultrafine e alle varie forme di sinergismo** che rende tali inquinanti particolarmente pericolosi per la salute umana.

Ci limiteremo ad accennare ad alcuni di questi meccanismi nei diversi capitoli che dedicheremo alla particolare sensibilità del bambino alle diverse forme di inquinamento; alla tematica dell'inquinamento atmosferico; agli effetti specifici di alcuni inquinanti sulla programmazione, lo sviluppo e il funzionamento di organi e tessuti; al ruolo che i perturbatori endocrini ed altre molecole tossiche sembrerebbero aver svolto nella genesi della pandemia di obesità e *diabesità*, nell'incremento di patologie del neurosviluppo e neurodegenerative, di patologie allergiche e immunomEDIATE e di varie forme di cancro. In sintesi: in quella che abbiamo definito la **Rivoluzione epidemiologica del XX secolo**.

CAPITOLO 3

INQUINAMENTO AMBIENTALE E RIVOLUZIONE EPIDEMIOLOGICA DEL XX SECOLO

Una delle sette “parole chiave” che abbiamo proposto all’inizio di questa monografia, nonché una delle tematiche fondamentali che stiamo cercando di meglio inquadrare e comprendere è certamente quella che abbiamo definito come la *Rivoluzione Epidemiologica del XX secolo*, consistente in una drammatica riduzione delle patologie acute, infettive e parassitarie, che hanno funestato la vita umana per millenni e contribuito a formare i nostri sistemi di difesa, e in un altrettanto rapido e consistente incremento di patologie cronico-degenerative, infiammatorie e neoplastiche che si è andato evidenziando negli ultimi decenni, prima nel Nord del mondo, poi a livello globale. Al di là di più specifiche definizioni non sussistono molti dubbi sul fatto che le patologie che colpiscono l’uomo cambino nel tempo *tanto* in relazione alle specifiche manifestazioni sintomatologiche che le caratterizzano, *quanto* per ciò che concerne la loro relativa frequenza. Ed è altrettanto evidente che i cambiamenti più significativi sono strettamente legati alle trasformazioni ambientali e degli stili di vita. Sulla base di quanto già detto sarebbe urgente e fondamentale, almeno a nostro parere, riconsiderare la trasformazione epidemiologica in atto come un evento significativo sul piano bioevolutivo, da studiare e comprendere sulla base delle principali modifiche ambientali e biologiche che l’uomo ha indotto nell’ambito dell’ecosfera e in particolare della biosfera.

Un primo modo per definire l’essenza della *Rivoluzione Epidemiologica del XX secolo* consiste nel confrontare i **dati di morbilità e di mortalità** degli inizi del secolo 20° con quelli attuali⁵⁴.

Salta immediatamente agli occhi come gli inizi del 20° secolo tali dati fossero ancora caratterizzati da una netta prevalenza di **patologie acute** da cause esogene (infettive e parassitarie). Senza entrare in eccessivi dettagli possiamo ricordare come cent’anni fa i decessi fossero causati per circa il **45-50%** da malattie infettive: tubercolosi (10%), infezioni respiratorie (20%), diarrea e malattie gastroenteriche acute (5%), altre malattie infettive (13%). Al contrario i decessi per patologie cardiovascolari rappresentavano all’incirca il 13% e le morti per cancro addirittura il 2% del totale (e tenuto conto delle possibilità terapeutiche di allora è probabile si tratti di un dato attendibile e significativo).

La situazione epidemiologica a un secolo di distanza è totalmente diversa, almeno nel Nord del pianeta (o meglio in proporzione al grado di sviluppo raggiunto, visto che nei cosiddetti paesi in via di sviluppo i dati epidemiologici tendono rapidamente a adeguarsi a quelli dei paesi più sviluppati).

I dati concernenti le cause di mortalità sono infatti oggi, a grandi linee, i seguenti: i decessi dovuti a **patologie cronico-degenerative, infiammatorie e neoplastiche** sono enormemente aumentati e rappresentano **di gran lunga la causa prevalente di morte** nei paesi occidentali⁵⁵: la mortalità per **patologie cardiovascolari** ammonterebbe a circa il 30%, mentre quella per **cancro** si avvicinerebbe a raggiungerla. Al contrario, almeno per il momento le malattie infettive “classiche” sembrerebbero quasi scomparse: la mortalità per tubercolosi e per enteriti gravi non raggiungerebbe l’1% e le morti per infezioni respiratorie rappresenterebbero circa l’8% di tutti i decessi (e si tratterebbe per la gran parte di affezioni delle vie respiratorie basse negli anziani).

Per quanto concerne le **malattie infettive e parassitarie** possiamo dire che i dati epidemiologici (in specie i dati di mortalità) nelle società avanzate sono ancora oggi abbastanza confortanti, anche se negli ultimi tre decenni l'epidemia di **AIDS** e il conseguente aumento “sindemico” di casi di **tubercolosi multiresistente**⁵⁶ anche nel Nord del pianeta è stato interpretato da molti esperti come un campanello d'allarme e come il segno che i facili trionfalismi degli anni '70 su una “imminente e definitiva vittoria” della scienza medica in questo campo erano del tutto ingiustificati.

Tanto più che negli ultimi anni altri “allarmi”, secondo alcuni eccessivi, secondo altri più che fondati, hanno costretto le maggiori Agenzie Sanitarie Internazionali (WHO, CDC in testa) a invitare ricercatori, esperti e responsabili sanitari di tutto il mondo a una maggior attenzione e prudenza, in particolare in relazione a vecchie e nuove emergenze infettive - **Dengue, West Nile Virus, Chikungunya** (queste ultime anche nel nostro paese)⁵⁷, conseguenti a cambiamenti ambientali e climatici e a fattori specifici del mondo globale, come migrazioni, trasporti e commerci internazionali⁵⁸ - e al contemporaneo emergere in varie parti del mondo di sottotipi di *orthomyxovirus* influenzali A potenzialmente pandemici (in particolare H5N1 e H9N2)⁵⁹.

Per non parlare di quella che rappresenta da decenni una delle cause in assoluto maggiori di preoccupazione per la salute globale: l'incremento continuo di microbi antibiotico-resistenti.

A questi problemi dedicheremo gli ultimi capitoli della monografia, limitandoci per il momento a prendere in esame e a cercare di meglio inquadrare quella che rappresenta, per molti versi, la componente più significativa della Rivoluzione epidemiologica in atto, almeno nel Nord del pianeta: l'aumento delle patologie cronico-degenerative e neoplastiche.

È del resto ormai noto a tutti che i più recenti dati e le proiezioni OMS concernenti le **patologie endocrino-metaboliche e neuro-degenerative** sono particolarmente drammatici. Dedicheremo un intero capitolo alla pandemia di obesità e *diabesità* e un altro all'incremento di malattie del neuro-sviluppo (autismo, ADHD ecc.), da alcuni ricercatori definito *pandemia silenziosa*, e di patologie neurodegenerative (*in primis* la malattia di Alzheimer).

Anche le prospettive per quanto concerne incidenza e prevalenza di **depressione** e **cancro** sono preoccupanti. In genere si valuta che il cancro colpisca ormai circa 1:2,5 persone nel mondo, mentre, secondo l'OMS la **depressione** potrebbe diventare, nei prossimi anni, addirittura la prima causa di disabilità in tutto il mondo, soprattutto per quanto concerne le donne e, di conseguenza, i loro bambini⁶⁰. Ma come si cerca in generale di spiegare tutto questo?

Generalmente si parla delle patologie cronico-degenerative e infiammatorie – tutte in grande aumento, come di patologie **multifattoriali** e le si interpreta come almeno in parte dovute a **stili di vita** poco corretti (sedentarietà, nutrizione ipercalorica e qualitativamente sbilanciata ecc.) perché troppo differenti da quelli che hanno caratterizzato la vita dei nostri predecessori.

Un altro comune modo di interpretarle consiste nel vedere in esse il prodotto, per così dire di un **mismatch** tra **ambiente e genoma** (individuale). Secondo le definizioni “più avanzate”, recentemente sancite anche da una formulazione ufficiale dei CDC (Centers for Disease Control) di Atlanta, le malattie croniche (*NCD: Not communicable diseases*: patologie non contagiose, non direttamente causate da agenti infettivi) dovrebbero essere considerate effetti della complessa interazione tra un **genoma** (DNA: informazioni *codificate*)⁶¹ essenzialmente stabile nel tempo e un **ambiente** (informazioni *esogene*) in continua trasformazione⁶².

È importante sottolineare che quella proposta dai CDC è una rappresentazione già piuttosto avanzata, che riconosce all'**ambiente** e alle sue trasformazioni un ruolo di primaria importanza. Ma è altrettanto importante sottolineare che il principale difetto di questa, come di molte altre rappresentazioni correnti, concernenti la relazione tra ambiente e DNA deriva essenzialmente dai limiti intrinseci del corrente modello di genoma che, come abbiamo accennato nel capitolo introduttivo (parola chiave n. 1) è tuttora **DNA-centrico o addirittura**

gene-centrico, e tende a considerare, da un lato il DNA come la molecola base contenente il programma genetico dell'individuo e, in particolare, i possibili polimorfismi e le mutazioni come semplici fattori protettivi o, al contrario, predisponenti nei confronti di determinate patologie, dall'altro l'ambiente come qualcosa di “ radicalmente altro”, che può, al limite, danneggiare il DNA stesso.

Ma prima di vedere come si possa configurare un modello radicalmente diverso delle possibili interazioni tra ambiente, inteso come fonte continua di informazioni (parola chiave n. 2) ed (epi)genoma fluido (parola chiave n. 1) e prima di vedere in che modo le trasformazioni recenti e attuali dell'ambiente possano indurre il genoma stesso a reagire e a modificarsi attivamente, dapprima nel suo *software* epigenetico, quindi anche nel suo *hardware* genetico, dobbiamo fare un altro *excursus* nel tempo, per meglio comprendere

- *da un lato* in che modo il nostro genoma si sia andato modellando e strutturando nel medio-lungo termine, cioè nel corso dell'evoluzione della nostra specie e, più in generale, dei primati,
- *dall'altro* in che modo le principali trasformazioni ambientali, socioculturali e nutrizionali a cui l'uomo è andato incontro, soprattutto nei circa 10.000 anni della sua storia (cioè a partire dalla *rivoluzione neolitica*, che ha rappresentato, come vedremo, il cambiamento culturale e nutrizionale probabilmente più importante in assoluto) abbiano potuto incidere sull'evoluzione del nostro fenotipo e (quindi) del nostro genotipo.

Cercheremo, in tal modo, di meglio illustrare la nostra tesi che soltanto una *medicina evolucionistica*, potrebbe aiutarci a comprendere le attuali trasformazioni epidemiologiche. Ma cercheremo soprattutto di dimostrare in che senso un modello evolutivo di tipo *neolamarchiano*, nel quale, come detto, l'ambiente abbia la capacità di indurre le trasformazioni più importanti del nostro fenotipo e del nostro genotipo, anche e soprattutto mediante il delicato e complesso meccanismo del *fetal programming* (parola chiave n. 3), cioè della modificazione attiva, adattativa e predittiva del nostro epigenotipo (e probabilmente, nel medio-lungo termine, del nostro genotipo) si riveli infinitamente superiore, per una migliore comprensione e “modellizzazione” dell'intero processo.

CAPITOLO 4

PROLEGOMENA A UNA MEDICINA EVOLUZIONISTICA

Abbiamo visto come secondo l'attuale modello a determinare l'incremento di patologie croniche e più in generale le trasformazioni del nostro fenotipo siano da un lato le informazioni provenienti dall'ambiente, dall'altro quelle contenute nel DNA. Abbiamo anche visto però come il limite principale di questo modello consista nel fatto che il DNA da un lato e l'ambiente dall'altro vengono definiti come mondi separati anziché interattivi e come solo un modello di genoma nuovo, dinamico e interattivo ci permetterebbe di giungere a una rappresentazione nuova e più dinamica della relazione tra ambiente e salute. In questo capitolo cercheremo di riassumere alcuni dati e concetti fondamentali che sono alla base dell'attuale rappresentazione: dati e concetti concernenti da un lato l'evoluzione della nostra specie e del nostro genoma, dall'altro alcuni cambiamenti epocali, *in primis* le cosiddette rivoluzioni neolitica e industriale, che hanno radicalmente cambiato l'ambiente (in senso lato) in cui sono vissuti i nostri immediati predecessori, interferendo sull'evoluzione della nostra specie in un modo profondo e ancora difficile da valutare.

Oltre mezzo secolo fa il grande genetista ucraino *Theodosius Dobzhansky*, uno dei “padri fondatori” della *sintesi neodarwiniana*, notò come nulla in biologia possa essere realmente compreso, se non in termini bio-evolutivi⁶³. La frase di Dobzhansky è, da alcuni decenni, una delle più citate (e non sempre a proposito) in conferenze e dibattiti sull'evoluzionismo. È importante notare che proprio la medicina moderna sarebbe il terreno ideale per dimostrarne la veridicità e pregnanza.

Un editoriale comparso su *Science* nel febbraio 2006, a firma tra gli altri di **Randolph Nesse** (che per primo aveva cercato di tracciare le linee guida di una medicina evoluzionistica/neodarwinistica) ed **Gilbert S. Omenn** (che aveva proposto già 40 anni prima un primo modello della transizione epidemiologica del XX secolo) ripropose con forza l'esigenza di meglio utilizzare in medicina i modelli e i concetti della biologia evoluzionistica, ricordando come **anche le nostre malattie siano una riprova del fatto che non siamo “macchine perfettamente disegnate”, ma sistemi biologici in continua trasformazione e co-evoluzione adattativa** (e in certa misura competitiva) con tutte le altre forme di vita e componenti bio-chimico-fisiche dell'ecosfera e in particolare della biosfera.

L'editoriale di *Science* faceva essenzialmente riferimento ad alcuni classici esempi di difetti anatomici (la ristrettezza del canale del parto) e di sofferenze (il mal di schiena) e malattie (anemia falciforme) la cui persistenza e frequenza è comprensibile solo alla luce del lungo processo di coevoluzione molecolare che ha contribuito, nei millenni, a forgiare i nostri genotipi e fenotipi.

L'editoriale sottolineava anche il *gap* evidente tra il nostro organismo, prodotto da milioni di anni di coevoluzione adattativa e un ambiente e modalità e stili di vita in troppo rapida trasformazione (citando quale esempio chiave, tra gli altri, l'incremento dei tumori al seno dovuto alla prolungata esposizione a estrogeni naturali e non e alla alterazione dei ritmi circadiani naturali con inibizione della produzione di melatonina) e accennava al modello emergente della programmazione epigenetica precoce (embrione-fetale) di organi e tessuti che proprio in quegli anni si andava definendo, aprendo la strada a una interpretazione più complessiva, in chiave bio-evolutiva, delle patologie cronico-degenerative e neoplastiche in continuo aumento negli ultimi decenni del secolo scorso.

L'ulteriore sviluppo della ricerca in questo campo e la progressiva comprensione dei meccanismi di riprogrammazione genetica precoce dei nostri tessuti nelle primissime fasi della vita, dovrebbe aiutarci a meglio comprendere quanto necessaria sarebbe una revisione in chiave evolutiva (adattativa e predittiva) delle modifiche sempre più frequenti, collettive e/o di specie del nostro fenotipo che definiamo "malattie".

Tra i molti esempi possibili ci soffermeremo più a fondo su quella che è probabilmente la più universalmente riconosciuta tra le "epidemie moderne": la pandemia di obesità e *diabesità* che si sta diffondendo a macchia d'olio in tutto il mondo in connessione con le trasformazioni ambientali, nutrizionali e degli stili di vita che caratterizzano il mondo "globalizzato" e in diretta relazione con la rapidità della trasformazione stessa e con il possibile, conseguente, *mismatch* genetico e/o epigenetico che ne consegue.

Questo ci permetterà, tra l'altro, di meglio comprendere la differenza fondamentale, e fin qui largamente sottovalutata, tra modelli bioevolutivi e patogenetici *neo-darwinistico* (selettivo e di lungo periodo, oggi dominante) e *neo-lamarckiano* (induttivo, adattativo, programmatico).

Vedremo, ad esempio, come per quanto concerne la suddetta pandemia di obesità e *diabesità*

- la *prima ipotesi*, prevalentemente neodarwinistica e DNA-centrica, proposta nei primi anni '60 dal genetista J. Neal, secondo il quale il rapido diffondersi di fenotipi svantaggiosi (obesità e diabete II) sarebbe stato il prodotto di una inadeguatezza del DNA umano - selezionatosi attraverso millenni di situazioni prevalentemente carenziali - ad affrontare società opulente e caratterizzate da un enorme surplus nutrizionale.
- sia stata successivamente soppiantata da modelli adattativi (definibili come *neo-lamarckiani*) basati sul modello del *fetal programming*, cioè della capacità del feto di programmare sulla base delle sollecitazioni e informazioni provenienti dall'ambiente (esterno e materno/fetale) e direttamente interferenti con l'assetto epigenetico di organi e tessuti in via di differenziazione.

Torneremo su tutto questo nei prossimi capitoli. Per meglio introdurre questa complessa tematica dobbiamo adesso quantomeno accennare

- *in primis* alle due epocali trasformazioni dell'ambiente operate dall'uomo, le **rivoluzioni agricola/neolitica e industriale**, che lo hanno definitivamente allontanato dalla Natura, incidendo prepotentemente sull'ultima parte del suo percorso evolutivo e contribuendo, tra l'altro, alle principali trasformazioni ecologiche ed epidemiologiche della sua storia;
- *quindi* ad alcuni dei principali **fattori biologici, ecologici, nutrizionali e culturali** che ci aiutino a comprendere in che modo tali drammatiche trasformazioni epocali abbiamo interferito e interferiscano sull'evoluzione di *Homo sapiens*, che sul piano biologico, immunogenetico e genetico rappresenta l'ultimo virgulto di un albero genealogico complesso, quello degli ominidi, appartenente all'ordine dei **primati**, ma che al contempo è diventato qualcosa di radicalmente **altro**.

LE GRANDI RIVOLUZIONI AMBIENTALI E CULTURALI DELLA STORIA UMANA

Alla luce di quanto detto fin qui dovrebbe essere già evidente come per comprendere l'attuale **transizione epidemiologica**, sia **necessario** inquadrarla e interpretarla su basi bio-evolutive, a partire da quelli che sono stati i due principali cambiamenti ecologici ed epidemiologici della storia umana:

- la **rivoluzione agricola** - che ebbe inizio 10-12 mila anni fa, facendo la sua comparsa, probabilmente in modo autonomo, in varie zone del pianeta: dapprima nel Vicino Oriente, poi in Cina intorno al 7500 a.C., in Centro e Sud America intorno al 3500 a.C. per infine diffondersi nel resto del mondo: basti dire che intorno al 2000 a.C. **la quasi totalità della nostra specie viveva di agricoltura** e che tale *modus vivendi* si sarebbe conservato fino a pochi decenni fa;
- la **rivoluzione industriale**, che ebbe inizio in Inghilterra alla fine del 18° secolo e che in circa due secoli avrebbe trasformato l'intera ecosfera, essenzialmente a causa dell'uso generalizzato di macchine azionate da energia meccanica e dell'utilizzo di **combustibili fossili**, ma anche e soprattutto della sintesi e dispersio-

ne in tutta l'ecosfera (litosfera, atmosfera, idrosfera, biosfera) e nelle catene alimentari di migliaia di **molecole potenzialmente tossiche** (proprio in quanto prodotte artificialmente e **non derivanti da un processo di co-evoluzione molecolare** durato miliardi di anni).

LA RIVOLUZIONE AGRICOLA

Al di là di ogni retorica e di ogni pregiudizio che hanno spinto taluni storici a definire la **Rivoluzione neolitica** come la prima vera tappa della civiltà umana, pare non ci siano dubbi ormai che l'adozione o meglio l'invenzione dell'agricoltura sia stata, almeno **dal punto di vista biologico e, in prospettiva, sanitario**, per usare le parole del famoso (e invero piuttosto eccentrico) antropologo Jared Diamond "**il peggior errore nella storia della specie umana**"⁶⁴.

E Diamond non è certo l'unico a pensarla così. Scrive, ad esempio, l'antropologo Tom Standage, autore di una recente storia dell'alimentazione umana⁶⁵: ***“Perché gli umani siano passati dalla raccolta e dalla caccia all'agricoltura è una delle domande più antiche e complesse della storia umana. Si tratta di un vero mistero, perché quel cambiamento - va detto - peggiorò la vita dell'uomo, e non solo da un punto di vista nutrizionale... Gli antropologi moderni che hanno trascorso del tempo in compagnia di gruppi superstiti di cacciatori-raccoglitori riferiscono che, anche nelle zone più marginali, dove oggi sono costretti a vivere, la raccolta del cibo esige solo una minima parte del loro tempo, e comunque molto meno di quanto ne richieda produrre la medesima quantità di cibo con l'agricoltura. Un tempo si pensava che l'avvento dell'agricoltura avesse dato all'uomo più tempo da dedicare alle attività artistiche, allo sviluppo di nuovi mestieri e tecnologie e così via. Secondo questa tesi l'agricoltura affrancò l'uomo da un angosciante esistenza alla giornata, tipica dei cacciatori raccoglitori. In realtà è vero il contrario. L'agricoltura è più produttiva nel senso che produce più cibo per una data superficie di terra... Ma l'agricoltura è meno produttiva se la si misura in base alla quantità di cibo prodotto per un'ora di lavoro. In altre parole, è un'impresa molto più faticosa.. (e) a quanto sembra i cacciatori raccoglitori erano molto più sani dei primi agricoltori... Gli agricoltori seguono una dieta meno varia e meno bilanciata dei cacciatori-raccoglitori... I cereali forniscono sufficienti calorie, ma non contengono l'intero spettro di nutrienti essenziali. Per questo gli agricoltori erano più bassi dei cacciatori-raccoglitori... Inoltre.. studiando i reperti ossei si è scoperto che gli agricoltori soffrivano di varie patologie dovute a malnutrizione, che nei cacciatori-raccoglitori erano rare o assenti, come il rachitismo (carenza di vitamina D), lo scorbuto (carenza di vitamina C), è l'anemia da carenza di ferro. (Ma soprattutto) gli agricoltori, a causa del loro stile di vita stanziale, erano anche più soggetti a malattie infettive come lebbra, tubercolosi e malaria. Inoltre, la loro dipendenza dei cereali aveva altre conseguenze: gli scheletri femminili spesso mostrano artrite alle giunture e deformità delle dita dei piedi, delle ginocchia e della regione lombare, tutte le associate all'uso giornaliero della macchina a mano per ridurre la granella in farina. I resti dentali evidenziano degli agricoltori soffrivano di carie, disturbo ignoto ai cacciatori-raccoglitori, poiché i carboidrati delle diete ricche di cereali venivano ridotti in zuccheri dagli enzimi della saliva durante la masticazione. Anche l'aspettativa di vita, determinabile sempre dallo scheletro, precipitò; secondo i reperti rinvenuti... L'aspettativa media di vita passò da 26 anni per i cacciatori-raccoglitori a 19 per gli agricoltori... Mano a mano che i gruppi diventavano stanziali e si ingrandivano, aumentava l'incidenza di malnutrizione, malattie parassitarie malattie infettive... Considerati gli svantaggi, perché di anni negli esseri umani si diedero all'agricoltura? La risposta, in sintesi, è che non si accorsero di quel che accadeva se non quando fu troppo tardi.”***

Un bel quadro, non c'è che dire. Un bel prezzo da pagare, per lo sviluppo della nostra civiltà. È infatti evidente che la rivoluzione neolitica, l'invenzione dell'agricoltura e della zootecnia, dei primi conglomerati abitativi e dei primi sistemi di irrigazione, il passaggio a una vita più sedentaria... insomma le trasformazioni alimentari e di stile di vita che rappresentarono i primi passi verso la grande civiltà umana, sembrano determinare quasi immediatamente:

- *da un lato* una **trasformazione significativa della biocenosi e soprattutto della micro-biocenosi** e quindi di quella che il grande storico della medicina Mirko Grmek ha definito **patocenosi**⁶⁶. Una analisi del tutto analoga era stata del resto proposta alcuni anni fa dal solito Jared Diamond, il quale, ricordando come la stragrande maggioranza delle patologie infettive e parassitarie che hanno funestato negli ultimi millenni la vita dei nostri più immediati progenitori (**malaria, tubercolosi, influenza..**) siano delle **zoonosi**, le aveva definite uno sgradevole “**dono del bestiame**”⁶⁷. Ma si potrebbe anche parlare di una sorta di vendetta, perpetrata dal bestiame contro chi lo aveva imprigionato, asservito e costretto a una vita altrettanto malsana, che avrebbe finito con l’incidere altrettanto negativamente sulla sua salute e persino sulle sue potenzialità evolutive, visto che sembra ormai dimostrato che la gran parte degli animali da noi addomesticati e costretti a una vita innaturale abbiano cervelli più piccoli, sensi meno acuti e siano affetti da tutta una serie di problemi patologici, tutto sommato non molto diversi da quelli di cui anche noi siamo affetti (una chiara e fin qui sottovalutata dimostrazione del fatto che **ambiente e stili di vita (nurture) hanno sulla nostra evoluzione biologica (almeno nel breve termine) e quindi sulla nostra salute, effetti maggiori della genetica (nature)..** come, del resto, vedremo trattando di varie altre patologie croniche, a partire dalla pandemia di obesità e diabete 2, che colpisce gatti e soprattutto cani, in modo simile ai loro padroni;
- *dall’altro* da un primo innesco (legato tanto a cause nutrizionali, quanto agli stili di vita più stanziali e sedentari) nell’organismo di *Homo sapiens* di alcuni dei **corto-circuiti e circuiti viziosi endocrino-metabolici e psico-neuro-endocrino-immunologici** che sono probabilmente (come cercheremo di dimostrare) all’origine di molte delle patologie cronico-degenerative e infiammatorie che funestano la vita dell’uomo moderno.

La **rivoluzione neolitica** ha dunque rappresentato la **prima e fondamentale tappa della trasformazione globale dell’ambiente terrestre** operata da *Homo sapiens*, come detto in tempi brevissimi sul piano bio-evolutivo. Nel suo libro Tom Standage dimostra, tra l’altro, in modo brillante e con grande dovizia di esempi, come praticamente **tutti gli alimenti di cui abbiamo fatto uso in questi 10.000 anni abbiano assai poco di veramente “naturale”**, essendo il prodotto di una incalzante “selezione artificiale” e di vere e proprie innovazioni “biotecnologiche” che hanno, in genere, puntato a incrementare la produttività e a rendere più facili i raccolti, fatalmente indebolendo piante e animali e impoverendo, sul piano nutrizionale gli alimenti stessi.

LA RIVOLUZIONE INDUSTRIALE

La **rivoluzione industriale** è stata, al di là di ogni ragionevole dubbio, la seconda tappa epocale della trasformazione ambientale e di conseguenza epidemiologica, operata da *Homo sapiens*. In genere si distingue tra prima e seconda rivoluzione industriale.

La **prima rivoluzione industriale** riguardò prevalentemente il settore tessile-metallurgico. Il suo arco cronologico è compreso tra 1760 del 1830 e vide l’introduzione delle prime macchine come la *spoletta volante* (*flying shuttle*), inventata nel 1733 in Inghilterra al fine di consentire la tessitura automatica e, soprattutto la **macchina a vapore** introdotta, nella sua forma definitiva, quella progettata da James Watt, nel 1765.

La **seconda rivoluzione industriale** viene fatta convenzionalmente iniziare intorno al 1870, con l’introduzione dell’**elettricità**, della **chimica moderna** e dei **combustibili fossili** (in particolare del petrolio, visto che l’uso esteso del carbone aveva già caratterizzato la *prima rivoluzione industriale*)⁶⁸.

Sussistono pochi dubbi sul fatto che anche la **rivoluzione industriale** abbia comportato una trasformazione profonda *tanto* dell’intero sistema economico e produttivo, sociale e politico, a livello globale, *quanto* dell’ecosfera e, in particolare, dell’atmosfera e della biosfera, con ripercussioni a livello biologico e quindi epidemiologico e sanitario, ancora impossibili da valutare (e sussistono pochi dubbi circa il fatto che gli effetti più drammatici e pericolosi, potenzialmente irreversibili e fin qui enormemente sottovalutati concernano essenzialmente questo livello).

Semplificando al massimo possiamo dire che, in genere, le valutazioni di ambito *socio-economico* delle conseguenze provocate da questa seconda *rivoluzione globale*, tendono a essere positive; mentre per le valutazioni di ambito *ecologico* il discorso cambia radicalmente, soprattutto negli ultimi decenni, anche e soprattutto a partire dai dati concernenti gli effetti globali dell'inquinamento chimico, tanto che verrebbe quasi la voglia, riprendendo l'icastica (e un po' caustica) espressione di Jared Diamond, che la rivoluzione industriale abbia rappresentato “*il secondo peggior errore nella storia della specie umana*”.

Ma forse, in questo secondo caso, sarebbe più corretto e, tutto sommato, più utile per una valutazione complessiva del problema, distinguere tra gli effetti a breve termine, che furono in generale positivi e quelli a medio lungo termine (ambientali, climatici, biologici, ecologici e sanitari) che, a questo punto e in assenza di risoluzioni internazionali, radicali e di grande portata, rischiano di essere drammaticamente negativi.

Per meglio inquadrare il problema conviene partire, ancora una volta, da un brano interessante. Scrive lo storico dell'economia. Antonio Escudero “*Non è affatto esagerato asserire che la rivoluzione industriale abbia costituito il cambiamento economico più importante della storia. All'inizio del 18° secolo la Gran Bretagna o la Francia erano paesi scarsamente popolati. La speranza di vita dei loro abitanti non superava i 30 anni. La maggior parte degli inglesi e dei francesi erano contadini. Ogni agricoltore produceva soltanto pochi alimenti. I centri urbani erano piccoli e gli artigiani che vi risiedevano realizzavano una limitata quantità di beni... Accrescendo la produttività del lavoro, la rivoluzione industriale aumentò la produzione e il consumo pro capite. Da allora la ricchezza dei paesi industrializzati è aumentata più della popolazione. Quest'ultimo fenomeno ha indubbiamente rappresentato il cambiamento economico più importante mai verificatosi nel corso della storia...*”⁶⁹.

E ancora: “*Il tratto più caratteristico delle condizioni demografiche anteriori alla rivoluzione industriale era l'elevatissima mortalità infantile (in media, ogni 1000 bambini 300 o 400 morivano entro il primo anno di età, mentre oggi nei paesi sviluppati tale cifra è ridotta al 10 o 15 per mille). Complessivamente ogni anno decedeva il 30-40 per mille della popolazione, contro agli odierni tassi inferiori al 9 per mille delle nazioni sviluppate. Nelle società preindustriali la mortalità raggiungeva spesso livelli catastrofici: in certi anni scompariva il 200-300 per mille della popolazione. Queste impennate della mortalità dipendevano dai cattivi raccolti o dalle epidemie. Era sufficiente qualche anno consecutivo di carestia, perché una popolazione denutrita fosse preda di malattie che la decimavano. La scarsa igiene e il sovraffollamento contribuivano a provocare violente epidemie che la medicina dell'epoca non era in grado di curare*”⁷⁰.

Si tratta di una valutazione alquanto positiva e non è certamente un caso che l'autore sia un'economista. Ma è anche innegabile che i dati citati sono veritieri e che **la rivoluzione industriale contribuì, almeno inizialmente, a risolvere grandi problemi sociali, economici, demografici e alimentari permettendo un'enorme sviluppo della civiltà umana**, anche sul piano culturale e scientifico.

Inoltre, come abbiamo sottolineato, **i possibili effetti veramente dannosi sul piano ecologico, biologico e addirittura bio-evolutivo e quindi sanitario** del rapidissimo e sempre più globale sviluppo industriale sono andati emergendo soltanto nell'ultimo mezzo secolo e persino tra gli scienziati non tutti sono disposti a pensare, come suggerito dal famoso chimico olandese (e premio Nobel) *Paul Crutzen*, **che l'uomo contemporaneo si stia trasformando in una vera e propria forza tellurica distruttiva**, visto che l'ormai evidente impatto dell'intero sistema produttivo e commerciale costruito dall'uomo, sull'ecosfera e in particolare sull'atmosfera e sulla biosfera, oltre che sul clima sono, **almeno in potenza, talmente catastrofici e irreversibili da imporre una radicale ri-valutazione critica degli ultimi due secoli di storia**⁷¹ e di quello che quasi tutti considerano ancora un **modello di sviluppo** sostanzialmente positivo.

Per tutti questi motivi sarebbe anche importante (anche se alquanto difficile) per noi **medici** e in particolare per gli **epidemiologi**, i **tossicologi** e tutti gli altri scienziati e tecnici che devono valutare, di volta in volta, i rischi e gli effetti dannosi di specifiche sostanze tossiche e/o di particolari situazioni di esposizione individuale

e collettiva a situazioni di inquinamento ambientale, fare sempre riferimento a una simile **rappresentazione storico-ecologica di ampio, amplissimo respiro**, per non rischiare di sottovalutare i rischi imminenti o piuttosto immanenti della trasformazione biologica ed eco-sistemica in atto.

Non dovrebbe essere difficile cogliere l'importanza e il vero significato di tutto questo in relazione all'argomento che abbiamo deciso di trattare in questa monografia: quello dell'**impatto complessivo che la rapidissima trasformazione ambientale e climatica indotta dall'uomo in pochi decenni** (è quasi superfluo ripeterlo: un tempo irrisorio in relazione e nell'ambito dei processi bio-evolutivi) potrebbe avere su equilibri biologici delicati e complessi formati in miliardi di anni (nell'ambito della cosiddetta *Rete della vita/Web of Life*, per usare un'espressione famosa coniata da Fritjof Capra, di cui anche l'uomo fa parte) e di conseguenza sulla salute umana.

È per questi motivi che siamo assolutamente convinti della necessità di una **Medicina evoluzionistica**, ma anche di **modelli genomici, evoluzionistici, patogenetici nuovi, al contempo molecolari e sistemici, istruttivi e costruttivi oltre che selettivi**, molto diversi, insomma, da quelli dominanti. Cominciamo dunque a vedere in che senso.

L'UOMO: UN PRIMATE PARTICOLARE

Comparando la struttura molecolare del DNA gli scienziati hanno dedotto che scimpanzé è pre-ominidi si sarebbero separati circa 6 milioni di anni fa. L'antropologo Jared Diamond, sottolineando come per il 98% le sequenze codificanti del nostro DNA siano praticamente sovrapponibili a quelle dello scimpanzé attuale (*Pan troglodytes*), ha addirittura, piuttosto provocatoriamente sostenuto che gli esseri umani sarebbero una sorta di **terzo scimpanzé**, accanto a *Pan troglodytes* appunto e al *bonobo* (*Pan paniscus*)⁷².

A grandi linee la genealogia dei nostri più diretti progenitori sarebbe la seguente: i primi veri ominidi (ardipitechi prima, australopitechi poi) avrebbero fatto la loro comparsa sulla terra all'incirca 4 milioni di anni fa. All'incirca 2,3 milioni di anni fa sarebbe stata la volta del genere *Homo*, che si sarebbe allontanato dalle foreste pluviali per adattarsi alla savana. Rispetto agli australopitechi i primi ominidi avrebbero avuto gambe lunghe e, soprattutto, cervelli di dimensione maggiore.

Delle prime forme di ominidi sappiamo poco e le denominazioni cambiano continuamente sulla base dei ritrovamenti fossili e, più recentemente, delle indagini molecolari: *Homo habilis* rappresenta, probabilmente, poco più che una denominazione antropologica, in riferimento all'emergente capacità di manipolare materiali per costruire rudimentali attrezzi di pietra; *Homo ergaster* e *Homo erectus* sarebbero specie già meglio definite che, comparse intorno a 1,7 milioni di anni fa, all'inizio del Pleistocene, avrebbero dato il via alla prima grande colonizzazione del pianeta, occupando circa 1,2 milioni di anni fa gran parte del territorio euroasiatico e raggiungendo Giava circa 900.000 anni fa⁷³.

Poiché pare che almeno una mezza dozzina di specie di ominidi abbiano convissuto sulla terra fino a circa 100mila anni fa, *Homo sapiens sapiens* sarebbe l'unica specie sopravvissuta: una situazione già di per sé inconsueta nell'ambito della storia evolutiva e che rischia di peggiorare ulteriormente, visto che gli altri primati sono, ancora una volta grazie alle drammatiche trasformazioni del pianeta indotte da *H sapiens*, a rischio di estinzione. Ma in che modo e in che senso la conoscenza di questo remoto percorso bio-evolutivo potrebbe aiutarci a meglio comprendere l'origine delle patologie tipiche dell'uomo moderno e, in particolare, quella che abbiamo definito come *Rivoluzione epidemiologica del 20°-21° secolo*?

Secondo la *biologia evoluzionistica* il nostro genoma (o meglio il nostro DNA), come detto assai simile a

quello degli scimpanzé, lo sarebbe a maggior ragione, a quello dei suaccennati ominidi. Per citare ancora Tony McMichael: “*Gli esseri umani contemporanei sono gli eredi di 2 milioni di anni di evoluzione biologica di quello che Paul Shepard chiamava il **genoma del selvaggio Pleistocene**... Homo sapiens e i suoi predecessori si sono evoluti in rapporto, in funzione e a causa del loro specifico ambiente di vita... Dovremmo indagare, ad esempio, il modo in cui la biologia umana, messa a punto sulla base dell'alimentazione disponibile nel Pleistocene (moderata quantità di oli vegetali e grassi animali prevalentemente insaturi), possa adattarsi a un maggior apporto di grassi saturi*”⁷⁴

In pratica gli antropologi, i genetisti di popolazione e i fondatori della *medicina evoluzionistica*⁷⁵ sembrano concordare sul fatto che molti problemi di salute che stiamo sperimentando, da quelli meno gravi (banali problemi articolari, ad esempio) a quelli più gravi (patologie cronico-degenerative) sarebbero il prodotto **dell'inerzia evolutiva del nostro DNA, rispetto alle rapidissime trasformazioni ambientali e dietetiche indotte da homo sapiens.**

Poche migliaia di anni di evoluzione culturale, e soprattutto di trasformazione radicale dell'ambiente e della dieta, rappresenterebbero, infatti, un lasso di tempo del tutto insufficiente a permettere un vero adattamento che, per essere stabile, dovrebbe derivare da modifiche del DNA: il che nell'ambito del modello corrente, significherebbe, in ultima analisi, **mutazioni stocastiche “premiare” dalla Selezione Naturale.**

Siamo così giunti a un punto veramente nevralgico nell'ambito della problematica che stiamo cercando di affrontare. Perché è evidente che la tesi dell'**inerzia evolutiva**, e in particolare dell'**insufficiente compliance evolutiva del nostro DNA**, appare non soltanto affascinante, ma anche sensata e ineludibile; ma è anche vero che, come cercheremo di dimostrare, che un preciso limite di questa teoria potrebbe risiedere nei modelli utilizzati: cioè nei modelli evoluzionistici correnti, tanto per ciò che concerne le trasformazioni molecolari e in particolare del DNA (*micro-evoluzione*), quanto per ciò che concerne le trasformazioni fenotipiche, che secondo la teoria *neo-darwiniana* dominante sarebbero il vero bersaglio della Selezione Naturale (*macro-evoluzione*).

Come detto, infatti, nell'ambito della teoria neo-darwinista le trasformazioni genetiche fondamentali e, in particolare quelle a carico della linea germinale sarebbero *mutazioni stocastiche* (da questo punto di vista anche il fatto che la riproduzione sessuata, tipica di quasi tutti gli organismi superiori, consenta una maggior variabilità genetica e fenotipica cambia poco la prospettiva generale, visto che il rimescolamento allelico che caratterizza la meiosi e quindi la formazione del DNA dei gameti sarebbe un evento essenzialmente casuale).

È evidente che l'utilizzo di tali modelli rende estremamente difficile la comprensione delle rapide trasformazioni fenotipiche subite da *Homo sapiens* in tempi così brevi sul piano evoluzionistico. Soprattutto è evidente che **la teoria neo-darwiniana non può essere di grande aiuto per la comprensione delle drammatiche trasformazioni epidemiologiche in atto**, a partire dalla *pandemia di obesità e diabete 2* che secondo vari autori dovrebbe essere considerata una vera e propria **modifica fenotipica di specie**, incredibilmente rapida e diffusa su tutto il pianeta.

A questo proposito è quasi d'obbligo ricordare come numerosi articoli contenuti in un numero unico recentemente pubblicato dalla rivista *Disease Models & Mechanisms*, e interamente dedicato alla *pandemia di obesità*, sottolineino come *Homo sapiens* rappresenti “**la prima e unica specie che stia acquisendo in tempi rapidissimi un nuovo fenotipo**”; e come tale rapidissima trasformazione fenotipica, che si è realizzata in pochi decenni e che secondo le ultime stime OMS disponibili concerne circa 700 milioni di persone (più 2 miliardi di soggetti in sovrappeso), pur essendo qualcosa di eccezionale in ambito evoluzionistico, solo in questo ambito possa essere valutata e compresa⁷⁶.

Cercheremo di meglio spiegare l'esigenza di considerare la pandemia nei termini di un **fenomeno evolutivo, (dis)adattativo di grande portata**. Anche per non cadere in affermazioni, del tutto prive di senso, secondo cui un risvolto positivo di questa *transizione epidemiologica* consisterebbe nel fatto che, grazie ad essa, ci

sarebbero, per la prima volta nella storia, più persone sovrappeso in tutto il pianeta, che non persone che soffrono di denutrizione: lettura che ad una riflessione appena più attenta si rivela superficiale e avventata, visto che la principale differenza tra le **due grandi epidemie di malnutrizione**, anche simbolicamente opposte, che insieme interessano la metà degli abitanti del pianeta è, caso mai, che mentre la **denutrizione** è semplicemente l'effetto di una situazione economico-politica sbilanciata ed ingiusta, la **pandemia di obesità e diabèsità** (che secondo alcuni potrebbe tramutarsi in tempi brevi in una sorta di *tsunami* in grado di disintegrare i sistemi socio-sanitari del Nord del mondo) è invece, sintomatica di un grave dis-adattamento evolutivo. E probabilmente, come vedremo, di una **s-programmazione epigenetica dell'intero circuito endocrino-metabolico (centrale/ipotalamico e periferico) che dovrebbe tenere in equilibrio introiti e consumi energetici cellulari, tessutali e dell'intero organismo.**

Per tornare al problema dei limiti degli attuali modelli biologici (genetico e bioevolutivo) e patogenetici, possiamo dire che la nozione secondo cui le **mutazioni del DNA** sarebbero eventi essenzialmente **stocastici** può anche essere valida e accettata, essendo tra l'altro compatibile con i dati che provengono dagli studi di filogenetica molecolare: è stato provato, ad esempio, che le due principali specie di scimpanzé tuttora esistenti presentano molte più variazioni di sequenze, che non *Homo sapiens*, a dimostrazione del fatto che, i tassi di mutazione essendo tutto sommato regolari, almeno in specie affini, il numero assoluto di mutazioni rappresenta un indice attendibile del tempo trascorso (alcuni milioni di anni dalla separazione tra *Bonobo* e *Pan troglodites*, appena 150.000 anni, l'equivalente di circa 8000 generazioni, dalla comparsa di *Homo sapiens*). Ma dovrebbe essere ormai anche evidente che tutto questo non dimostra che **le mutazioni del DNA rappresentino il fattore decisivo per le trasformazioni fenotipiche**, né in ambito evuzionistico e fisiologico né, come meglio vedremo, in ambito patologico (si pensi alle tante linee cellulari neoplastiche, caratterizzate da decine di migliaia di mutazioni, che dovrebbero esser considerate piuttosto un epifenomeno, secondario e rivelatore di una *instabilità genomica*)⁷⁷. Si tratta evidentemente di un problematica immensa, alla quale ci limiteremo ad accennare nel prossimo capitolo, quantomeno nel tentativo di spiegare **in che senso un cambio di paradigma si dimostri sempre più urgente e necessario.**

CAPITOLO 5

VERSO UN NUOVO “PARADIGMA”: DALLA GENETICA, ALLA GENOMICA, ALL’EPIGENETICA

*“In the future attention undoubtedly will be centred on the **genome**, and with greater appreciation of its significance as a **highly sensitive organ of the cell**, monitoring genomic activities and correcting common errors, sensing the unusual and unexpected events, and responding to them often **by restructuring the genome**”⁷⁸*
Barbara McClintock - Nobel Lecture, 8 December, 1983

Negli ultimi dieci anni le conoscenze nel campo della biologia molecolare, della genomica, della biologia evoluzionistica sono enormemente aumentate e si va delineando un modello assolutamente nuovo di genoma dinamico e interattivo con l’ambiente. Se per quasi mezzo secolo si era pensato al DNA come a un semplice «serbatoio di informazioni», frutto di milioni di anni di evoluzione molecolare e quasi immutabile nel tempo e alle altre componenti della *cromatina* e in particolare agli *istoni* (le proteine attorno alle quali il DNA è superavvolto, per poter essere contenuto in un nucleo di pochi *micron* di diametro) come ad una semplice struttura portante ancora più stabile (conservata per centinaia di milioni di anni) e semplicemente deputata a garantire le migliori modalità di esposizione del DNA (cioè dei «geni»), negli ultimi anni ci si è resi conto che l’intero genoma andrebbe rappresentato piuttosto come un *network* molecolare complesso e dinamico, in continua interazione con l’ambiente e che quest’ultimo andrebbe considerato come una fonte di informazioni - molecole chimiche, ioni metallici, radiazioni ionizzanti e non – che interagiscono con la componente più fluida del genoma stesso, l’*epigenoma*, inducendola continuamente a trasformarsi e a riposizionarsi, per rispondere nel modo più efficace alle sollecitazioni. In una tale rappresentazione dinamica e sistemica, la struttura tridimensionale della *cromatina* verrebbe a configurarsi come un complesso molecolare intimamente reattivo: le stesse modifiche genomiche e cromosomiche, andrebbero interpretate in questa luce e le mutazioni, tradizionalmente interpretate come *stocastiche*, verrebbero a configurarsi, almeno in parte, come modifiche attive/difensive a carico dapprima dell’epigenoma (e della cromatina nel suo assetto tridimensionale) e in un secondo tempo della stessa sequenza-base del DNA. E le patologie croniche (degenerative, infiammatorie, neoplastiche) più che come effetti di mutazioni stocastiche o di polimorfismi del DNA, sarebbero da interpretare come il prodotto di un lungo processo reattivo-adattivo iniziato *in utero* o addirittura nelle cellule germinali.

Per preparare la strada all’auspicata “*rivoluzione kuhniana*” e alla formulazione di un “nuovo paradigma” in campo biomedico è necessario partire dai dati provenienti dalla ricerca più recente nel campo della biologia molecolare, che dimostrano come le informazioni provenienti dall’ambiente inducano continuamente il genoma delle **cellule somatiche** (*in primis* il loro *software* epigenetico) a modificarsi re-attivamente in base alle esigenze immediate dell’organismo; ma, soprattutto, il genoma delle **cellule staminali tessutali** e, durante lo sviluppo ontogenetico, quello delle **cellule embrio-fetali** in via di attiva proliferazione e differenziazione (per dar forma ai diversi organi e tessuti) in modo da **programmare** il proprio assetto epigenetico e genetico. Cercheremo quindi di dimostrare in che senso le malattie cronico-degenerative e neoplastiche in grande aumento in tutto il mondo potrebbero essere l’effetto di queste **modifiche “adattative”** (epigenetiche, genetiche e, in ultima analisi, fenotipiche) o, se si preferisce, del fallimento di queste. Ma per accettare e comprendere un simile cambio di paradigma, bisognerà meglio definire sul piano molecolare il modello di **genoma fluido, aperto** alle informazioni provenienti dall’esterno, **attivo** e **reattivo** di cui abbiamo parlato finora: un genoma inteso come *network* molecolare unitario e sistemico, intrinsecamente dotato della capacità di modificare, dapprima il proprio *software* epi-

genetico, poi la stessa sequenza di DNA, per far sì che le cellule e, in ultima analisi, i vari tessuti e organi componenti l'organismo, rispondano nel modo migliore alle sollecitazioni/informazioni provenienti dall'ambiente. Una differenza veramente essenziale tra il modello **“tradizionale”** di genoma e quello **“fluidico”** in via di definizione è che nel primo si tende a identificare DNA e genoma, o comunque a riconoscere nella sequenza di basi del DNA la parte fondamentale del sistema, nel secondo si cerca di delineare un **modello unitario e sistemico**, composto da una parte più stabile e conservata nel tempo (DNA e corpi istonici) e da una più dinamica e reattiva (l'epigenoma *sensu stricto* composto da enzimi, fattori e co-fattori di trascrizione, *networks* di RNA non codificanti.. che concorrono a marcare il DNA e le code istoniche, a modificare l'assetto tridimensionale della cromatina, a effettuare la trascrizione e le modifiche post-trascrizionali e post-traduzionali..). In quest'ottica l'intero genoma andrebbe considerato come un **(eco)sistema molecolare complesso e unitario**, composto oltre che dalla sequenza-base del DNA, in cui è conservata essenzialmente la memoria specie-specifica e alcune varianti molecolari che caratterizzano il soggetto (ma che, come vedremo, sembrerebbe a sua volta modificarsi frequentemente e attivamente, in specie in alcuni organi e tessuti come il cervello)⁷⁹, dal suddescritto, straordinariamente fluido e complesso, *network* epi-genetico nel quale si realizza la vera e propria *dialettica* molecolare tra informazioni endogene ed esogene, cioè appunto tra **genoma e ambiente**. In questa prospettiva dovrebbe essere, soprattutto, evidente che le principali modifiche epigenetiche e genomiche in genere (le metilazioni, ma anche le possibili modifiche di sequenza come trasposizioni, variazioni di copie etc.; le modifiche postriscrizionali a carico delle code istoniche; le modifiche dei *network* di RNA minori) non andrebbero lette come modifiche **passive** (mutazioni, aberrazioni e lesioni in genere) bensì come modifiche **attivo-reattive**, nell'ambito di un **modello di (epi)genoma veramente unitario e dinamico**, in grado di auto-ingegnerizzarsi attivamente in relazione/risposta alle sollecitazioni e alle informazioni (molecolari) che provengono dall'ambiente (e dal microambiente). Ancora in quest'ottica sarebbe importante comprendere come, se si ammette che l'**epigenoma**, cioè la parte più dinamica e continuamente mutevole del genoma, fa da tramite tra le informazioni e gli stimoli provenienti dall'**ambiente** e la sequenza-base del **DNA**, questo significa, in sostanza, che il nostro **fenotipo** muta, continua a mutare, tanto nel *range* delle trasformazioni fisiologiche, che in senso patologico in ragione di questa continua dialettica tra *inputs* provenienti dall'esterno e informazioni contenute nel genoma e che in seguito ad un qualsiasi *stress* acuto o protratto i tessuti (e quindi l'**epigenoma** delle diverse popolazioni cellulari che lo compongono), sono forzati a cambiare.. il che determina dapprima una **instabilità** epigenetica e genetica (**ipometilazione diffusa, metilazioni distrettuali, modifiche istoniche.. trasferimento di sequenze mobili e retrovirali..**) e, in un secondo tempo, trasformazioni sempre più stabili (delezioni, duplicazioni, traslocazioni, mutazioni puntiformi) della stessa sequenza e, in particolare, della componente codificante. In pratica possiamo riassumere tutto questo dicendo che:

- **se il nostro fenotipo fisiologico (omeostasi) è il prodotto di milioni di anni di evoluzione** (e di un confronto dinamico tra **flusso di informazioni esogene e set di informazioni fissate/codificate nel DNA, ma anche in altre molecole e strutture**);
- ogni **fenotipo patologico** sarebbe da considerare come il prodotto di una reazione a un flusso di informazioni quali-quantitativamente **troppo diverse** rispetto a quelle che nei milioni di anni si sono fissate/tradotte in forma di memoria nucleare e cellulare. In questo senso le definizioni informazionali e reattivo-adattative (rottura dell'omeostasi; iperreattività; eccessi difensivi e riparativi..) e i modelli al contempo molecolari e sistemici di malattia si chiarirebbero e acquisterebbero maggior significato.

Tra le conseguenze dell'adozione di un simile modello di patogenesi (e in particolare, come vedremo, di cancerogenesi) anche **le attuali modalità di valutazione, tanto epidemiologiche che tossicologiche** (ivi comprese quelle di livello **molecolare**, se utilizzate all'interno di un modello obsoleto) si riveleranno alquanto **carenti**.

Il problema di fondo, infatti, non sarebbe tanto comprendere quali siano le **“cause prossime” responsabili** (dell'incremento) **di singoli patologie** in particolari territori, **piuttosto comprendere come le “cause remote”** (in particolare quelle per così dire fissate nel DNA: polimorfismi, mutazioni etc., da cui derivano differenti suscettibilità/reattività) e **“prossime” (ambientali ed epigenetiche)** agiscano (insieme) **nel determinare uno stress genetico** che è sempre più **collettivo** e persino **transgenerazionale** e che rappresenta una sorta di *background* patogenetico comune a varie patologie cronico-degenerative, infiammatorie e neoplastiche (le quali, in questa prospettiva, dovrebbero essere viste come un “sintomo”, particolarmente rivelatore, di una **crisi biologica** che, sia detto per inciso, non concerne soltanto l'uomo, ma l'intera biosfera).

CAPITOLO 6

VERSO UN NUOVO “PARADIGMA”: EPIGENETICA e RIVOLUZIONE EPIDEMIOLOGICA del XX SECOLO (PARTE A)

L'incremento delle malattie cronico-degenerative e neoplastiche alla luce dei nuovi modelli genomici e patogenetici.

Nel corso dell'ultimo secolo e soprattutto negli ultimi decenni (un tempo infinitesimo in relazione ai tempi propri dell'evoluzione biologica e *quindi* dell'adattamento co-evolutivo dei vari organismi all'ambiente), l'uomo ha prodotto e immesso nella biosfera una quantità immensa di molecole artificiali (alcuni autori anglosassoni hanno parlato, a questo proposito, di *fall out* chimico), trasformato interi ecosistemi (micro)biologici e virali, ampliato la gamma delle forme di energia immesse nell'ecosfera. Parlare di *ambiente e salute* significa cercare di comprendere quali potrebbero essere gli effetti bio-molecolari di questa trasformazione drammatica e complessa, che da alcuni decenni mette sotto pressione l'intera biosfera e in particolare l'assetto genetico ed epigenetico degli organismi superiori. Per valutare correttamente l'impatto biologico (e quindi sanitario) dell'attuale modello di sviluppo non si può prescindere da una cornice bioevolutiva di lungo periodo e da una riflessione più complessiva sul rapporto, in via di vertiginosa trasformazione, tra uomo e ambiente.

La stessa *Rivoluzione Epidemiologica del XX Secolo*, consistente in una drammatica riduzione delle patologie acute da cause esogene e in un altrettanto significativo incremento delle patologie cronico-degenerative da cause endogene (*immunomEDIATE, neoplastiche, neuro-degenerative, endocrino-metaboliche, cardiocircolatorie*) appare sempre più chiaramente correlata alla repentina alterazione dell'ambiente prodotta dall'uomo ed alle (conseguenti) trasformazioni (epi)genomiche che avvengono nelle prime fasi dello sviluppo del feto e del bambino (*Barker Hypothesis/Hygiene Hypothesis/low grade systemic inflammation*).

IL CONCETTO DI MALATTIA NELL'AMBITO DELLA MEDICINA MODERNA

Per introdurre una problematica come quella declinata dal titolo, può essere utile e forse necessario riflettere brevemente su alcuni concetti basilari, che cercherò di porre in forma semplice, se non addirittura semplicistica: che cosa dobbiamo intendere con il termine **malattia**? Ha senso intendere le malattie come entità dotate di consistenza ontologica (definibile in termini di quadro sintomatologico, fisiopatologico o molecolare *standard*) o sarebbe più corretto parlare dei singoli casi, dei singoli “malati” (inquadrando le malattie piuttosto come *storie*, individuali e collettive)? E ancora: se riconosciamo l'esistenza delle *malattie*, cosa dobbiamo intendere con questo termine? Da quando ci si è convinti della loro “esistenza”? E ancora: ha veramente senso pensare che esistano malattie/quadri patologici/cortei sintomatologici ben definiti e indipendenti dagli specifici contesti ambientali e storici che li hanno determinati?

Semplificando al massimo il discorso possiamo affermare che nel corso degli ultimi due secoli si è andata affermando una concezione delle *malattie* come entità ben definite (addirittura secondo un grande storico della medicina “reificate”)⁸⁰: dapprima su base *nosologica* (segni-sintomi), poi su base *fisiopatologica* (meccanismi), infine su base *molecolare*, almeno a partire dalla celebre formulazione “*un gene, un enzima*” da parte di

Sir Archibald Garrod⁸¹ e dai primi modelli di malattia molecolare proposti da Pauling.

Proprio negli scritti geniali e forieri di grandi scoperte di Linus Pauling é possibile individuare le grandi potenzialità e i rischi insiti nel paradigma *riduzionista*, che domina la ricerca bio-medica da oltre mezzo secolo: si veda il famoso articolo pubblicato nel 1949 su *Science* in cui l'anemia falciforme viene a definirsi come malattia molecolare, causata da un'alterazione della molecola di emoglobina, equiparata a un "*micro-organo malato*"⁸². Un preciso limite della medicina moderna deriva dall'adozione di un modello eziopatogenetico *lineare* e, in particolare, dalla ricerca, di volta, in volta, di una *causa* specifica che determini l'*effetto/malattia* e, possibilmente, di un rimedio altrettanto specifico (*pharmakon*). Questo ha fatto sì che l'accento venisse posto sulle *cause prossime* e sulla ricerca di risposte terapeutiche immediate, con grandi vantaggi e successi per ciò che concerne le *malattie acute da cause esogene* (in particolare per ciò che concerne le malattie batteriche e parassitarie, dominanti nel XIX secolo e per parte del XX). Assai meno efficace si è rivelata però l'applicazione di un tale modello nell'ambito delle *malattie cronico-degenerative (disreattive, infiammatorie e neoplastiche)* che sono diventate dominanti negli ultimi decenni del XX secolo, in stretta concomitanza con la diminuzione (praticamente speculare) delle suddette malattie acute da cause esogene. Una coincidenza cronologica significativa, su cui torneremo, ma che non dovrebbe essere spiegata, ancora una volta, sulla base di modelli lineari e approssimativi: la teoria, ad esempio, secondo cui i miglioramenti igienici o addirittura sanitari, avendo causato la quasi scomparsa delle malattie infettive, avrebbero indotto - secondo le prime formulazioni della cosiddetta *Hygiene Hypothesis* - una sorta di *auto-immuno-dis-reattività*⁸³ appare oggi un po' semplicistica⁸⁴. È infatti sempre più evidente che le malattie croniche sono *multifattoriali*: che alla loro origine concorrono tanto fattori genetici, che ambientali e che non avrebbe alcun senso ostinarsi nella ricerca di una causa univoca di malattia, magari cercando di sostituire alla causa determinante *esogena* (il *germe*), una causa endogena (il *gene*).

Nurture e Nature: dalla Genetica all'Epigenetica

Affermare la *multifattorialità* di un processo patologico significa essenzialmente sostenere che i meccanismi patogenetici implicati sono numerosi e complessi e che alcune di tali con-cause sono prevalentemente *endogene*, altre *esogene*. Questo ha condotto numerosi autori a interrogarsi lungamente circa il ruolo svolto nel processo patogenetico dalle informazioni provenienti dall'ambiente (*nurture*) e da ciò che è frutto esclusivo del patrimonio genetico, o meglio dell'eredità genetica (*nature*)⁸⁵.

Negli ultimi anni, però, la contrapposizione, anzi la stessa dialettica *nurture/nature* è stata messa in discussione o quantomeno ha cambiato di valore e significato⁸⁶. Ha infatti sempre meno senso chiedersi quanta parte abbia nella genesi di una malattia (e più in generale nelle trasformazioni del nostro fenotipo) l'**informazione** proveniente dall'esterno, rispetto a quella inscritta nel DNA del soggetto. Potremmo anzi dire che da alcuni anni la stessa distinzione tra esterno e interno o almeno la linea di confine tra queste due realtà si è fatta più sfumata, essenzialmente grazie alla definizione e allo studio dell'*epigenetica*, cioè delle **interazioni molecolari attraverso cui le informazioni provenienti dall'ambiente inducono l'attualizzazione fenotipica di quelle (ereditarie) contenute in potenza nel genoma**⁸⁷.

Da quanto abbiamo visto nei capitoli precedenti, possiamo dire:

- che il nostro **genoma** è composto di una parte relativamente stabile, la molecola base del DNA (che trasporta essenzialmente la memoria di specie e che in condizioni naturali muta assai lentamente, nel corso di milioni di anni) e da un complesso assai più dinamico, interattivo con l'ambiente e continuamente mutevole, che definiamo *epigenoma* (se il DNA può esser paragonato all'*hardware*, l'epigenoma rappresenta il *software* che dirige le operazioni)⁸⁸;
- che tutto ciò che mangiamo, respiriamo e persino ciò che ascoltiamo, percepiamo, pensiamo e soffriamo⁸⁹ interferisce con l'assetto del *software*: poiché ogni informazione che giunge dall'ambiente (*nurture*) attiva o disattiva, apre o chiude tutta una serie di circuiti biochimici intercellulari e intracellulari e, in ultima analisi, induce dapprima una trasformazione, praticamente immediata e reversibile, del *software*⁹⁰, poi, nel

medio-lungo termine e in modo potenzialmente irreversibile, dell'*hardware* (l'esempio più emblematico in tal senso concerne, almeno per il momento, la cancerogenesi)⁹¹;

- che chi studia il genoma di due **gemelli monozigoti** in tenera età, si troverà di fronte due *network* molecolari praticamente identici, mentre chi analizza i genomi degli stessi due soggetti dopo anni di esperienze diverse, che hanno via, via “marcato” l'epigenoma e indotto la cromatina a riposizionarsi, vedrà che l'esperienza (*nurture*) ha drammaticamente cambiato l'assetto del genoma (*nature*)⁹²;
- che una parte delle **trasformazioni epigenetiche** si trasmette da una generazione cellulare all'altra, permettendo e stabilizzando la progressiva **differenziazione morfo-funzionale** delle cellule nei vari tessuti⁹³ e stiamo cominciando a capire come almeno una parte delle marcature epigenetiche si conservi e trasmetta da una generazione umana all'altra⁹⁴ e come questo possa tradursi, in alcuni casi, in una trasmissione trans-generazionale del danno e persino di patologie neoplastiche⁹⁵;
- che le maggiori trasformazioni epigenetiche concernono le cellule meno differenziate (caratterizzate da un **assetto epigenetico e genomico più plastico**) e quindi le **cellule totipotenti e multipotenti** delle prime fasi dell'ontogenesi e le **cellule staminali** dei vari tessuti.. e che le marcature epigenetiche delle cellule germinali possono incidere addirittura sulla discendenza (tanto che è stato scritto che accendere una sigaretta o consumare un certo cibo o esporsi a sostanze inquinanti può danneggiare il destino dei propri nipoti)⁹⁶.

Se a questo punto cerchiamo di immaginare davvero l'ambiente come un **flusso continuo di sollecitazioni e di informazioni molecolari**, più o meno complesse (parola chiave n 2 del capitolo introduttivo) possiamo affermare che ogni cellula e, per estensione, ogni organismo è continuamente sollecitato a cambiare per adattarsi e che, a questo scopo, deve acquisire le informazioni stesse, elaborarle, trasformarle in nuova **informazione**, che potrà essere fissata in vario modo (dapprima e nel breve termine a livello epigenetico, in seguito anche in ambito genetico), in specie in alcuni tessuti deputati allo scopo: il sistema immunocompetente (formazione di linfociti di memoria; di immunoglobuline sempre diverse e sempre meglio adattate agli stimoli antigenici; di specifici recettori linfocitari)⁹⁷ e il sistema nervoso centrale (modalità epigenetiche di fissazione della memoria e formazione di sinapsi e circuiti)⁹⁸.

A questo punto si comprenderà meglio perché abbiamo più volte ribadito che la differenza fondamentale tra il modello bioevolutivo (*neo*)*lamarchiano* e quello *neodarwinista*, oggi imperante, concerne il ruolo dell'**ambiente**: nel senso che se nell'ambito del paradigma neodarwiniano l'ambiente svolge un ruolo essenzialmente **selettivo**, l'evoluzione *lamarckiana* appare direttamente modulata e guidata da *necessità* interne agli organismi, in parte **indotte dall'ambiente** stesso.

Se nei prossimi anni risulterà in modo sempre più chiaro che **l'ambiente è in grado di trasformare il nostro fenotipo, tanto in senso fisiologico, che patologico, inducendo le continue modifiche reattivo-adattative del nostro genoma** (facendo leva, nel breve periodo sul *software* epigenetico, ma agendo nel medio-lungo termine sullo stesso DNA) e se sarà definitivamente dimostrato che almeno una parte di queste modifiche genomiche si trasmette verticalmente da una generazione all'altra⁹⁹ (possiamo dire *lamarckianamente*, ma senza dimenticare che lo stesso Darwin era, in questo, certamente più *lamarckiano* dei suoi propri seguaci e proseliti), è evidente che la medicina dovrebbe riconoscere all'ambiente (e, in particolare, alla **drammatica trasformazione chimico-fisica** di tutti i comparti dell'ecosfera che l'uomo ha determinato in pochi decenni) un ruolo assai più importante di quello oggi comunemente ammesso.

Da quanto detto sin qui, possiamo meglio intendere come e perché, se il **programma genetico potenziale e, di conseguenza, le strutture anatomiche e le caratteristiche fisiologiche proprie di una data specie sono il prodotto di milioni di anni di lenta co-evoluzione molecolare adattativa** in un ambiente relativamente stabile sul piano chimico (molecolare), come dimostra il fatto che negli ultimi 6-8 milioni di anni la sequenza del DNA propria dei primati è cambiata assai poco (in particolare per ciò che concerne la componente codificante le proteine)¹⁰⁰, la **drammatica trasformazione chimico-fisica dell'ambiente indotta dall'uomo in pochi decenni** [una frazione di tempo del tutto irrilevante in ambito bio-evolutivo: si pensi alle decine di migliaia di *molecole di sintesi o di scarto* immesse nell'ecosfera a partire dalla seconda rivoluzione industriale (molte

delle quali genotossiche, la gran parte delle quali poco studiate¹⁰¹) e alla notevole gamma di *radiazioni ionizzanti e non* di frequenza diversa che nell'ultimo mezzo secolo ha letteralmente invaso l'atmosfera, per alcune delle quali è stata già dimostrata una possibile interferenza tanto sull'epigenoma, quanto sul DNA¹⁰²] possa determinare uno **stress epigenetico** e, conseguentemente, una **instabilità genomica e cromosomica** non solo e non tanto a carico dei tessuti più sollecitati o più direttamente esposti negli organismi maturi (azione pro-cancerogena), ma anche e soprattutto negli organismi in via di sviluppo (in relazione alla maggior **plasticità** delle cellule poco differenziate) e nei gameti.

E a questo punto dovrebbe anche risultare più comprensibile quanto detto intorno all'importanza di distinguere tra **cause prossime** e **cause remote** delle malattie e dovremmo più facilmente riconoscere il ruolo di queste seconde nella determinazione di **patologie croniche** - degenerative, immunomediata e neoplastiche - che insorgono come conseguenza di alterazioni della *programmazione epigenetica* di organi e tessuti, reattivo-adattative a situazioni ambientali o micro-ambientali che l'organismo in via di sviluppo recepisce come potenzialmente pericolose o comunque non favorevoli alla corretta realizzazione del proprio programma genetico (*fetal programming*)¹⁰³.

È questa la grande tematica originata dalla cosiddetta **Barker Hypothesis**¹⁰⁴ e più recentemente, dalla teoria dell'**Origine Fetale delle Malattie dell'Adulto** (DOHAD - *Developmental Origins of Health and Diseases*)¹⁰⁵ che, da modello patogenetico validato per alcune patologie endocrino-metaboliche¹⁰⁶, sembrerebbe poter asurgere a una sorta di **paradigma patogenetico "universale"** in base al quale le alterazioni del microambiente uterino (legate a carenze nutrizionali, all'inquinamento progressivo dell'ambiente e delle catene alimentari o ad altre situazioni di *stress* materno-fetale) sembrerebbero poter produrre alterazioni dello sviluppo ontogenetico e, in particolare, dell'assetto epigenetico di vari tessuti ed organi¹⁰⁷, trasferibili per di più da una generazione all'altra¹⁰⁸.

Ma parlare di **cause remote** delle malattie significa fare riferimento non solo alle possibili *alterazioni epigenetiche* insorte nelle prime fasi della vita fetale o concernenti addirittura i gameti dei genitori del soggetto malato; significa anche e soprattutto rifarsi, ancora una volta, al processo evolutivo nel suo insieme. Non bisognerebbe infatti trascurare (come si è fatto finora, in particolare in ambito biomedico) che **ogni singolo organismo è il prodotto di un duplice percorso di sviluppo, filogenetico ed ontogenetico**¹⁰⁹.

Per meglio intendere questo passaggio fondamentale, ricordiamo, ancora una volta, che con il termine **filogenesi** ci si riferisce ad un processo *co-evolutivo e co-adattativo* che, iniziato circa 4 miliardi di anni fa (almeno sulla terra), ha condotto, a partire da organismi semplici (monocellulari) alla formazione di organismi via, via più complessi tanto sul piano *genetico* (*genotipico*), che su quello *anatomo-fisiologico* (*fenotipico*) e che, in seguito a tale processo, gli organismi hanno acquisito, trasformato e fissato le informazioni provenienti dall'ambiente esterno, convertendole in *bio-molecole* (*acidi nucleici e proteine*) e in strutture (cellule, tessuti, organi, apparati) specie-specifiche. Con il secondo termine (**ontogenesi**) si fa, invece, riferimento al processo di sviluppo individuale, in parte *geneticamente programmato* (le istruzioni essendo fissate essenzialmente nel DNA specie-specifico, prodotto dal suddescritto processo filogenetico), in parte indotto dalle informazioni provenienti dall'*ambiente* (in larga misura attraverso il filtro del *microambiente materno/uterino*)¹¹⁰.

Potremmo anche dire, per sintetizzare e chiarire la relazione tra questi due processi in certa misura paralleli, che lo sviluppo ontogenetico (individuale) è il prodotto della **decodifica delle potenzialità genetiche dell'individuo, indotta e modulata dalle informazioni provenienti dall'ambiente**. Parafrasando ancora una volta la famosa e discussa espressione di Ernest Haeckel secondo cui "*l'ontogenesi ricapitola la filogenesi*" [che, come abbiamo detto, potrebbe esser considerata come l'origine della corrente evoluzionistica che va sotto il nome di **Evo-Devo** e che ha avuto il grande merito di ricollegare, dopo alcuni decenni di deleteria separazione, la biologia evoluzionistica (*Evolutionary Biology*) e la biologia dello sviluppo (*Developmental Biology*)] potremmo anche dire che l'ontogenesi rappresenta il banco di prova e il laboratorio della filogenesi (e sarebbe allora addirittura più corretto e più efficace il binomio **Devo-Evo**).

E ancora, per meglio chiarire l'essenza di questa nostra duplice origine e per sottolineare quello che è forse **il punto di maggior divergenza col modello “DNA centrico” dominate**, potremmo anche affermare che se il prodotto del percorso *filogenetico* che ci unisce alle milioni di forme di vita che ci hanno preceduto è il nostro DNA, che rappresenta, conviene ribadirlo ancora una volta, essenzialmente il **programma specie-specifico** e, al contempo, il nostro “**programma genetico individuale potenziale**”, il nostro vero e definitivo programma genetico (o piuttosto **genomico**) individuale è il prodotto (**adattivo e predittivo**) del secondo percorso (*ontogenetico*), che dura 9 mesi e che è in larga misura indotto e modulato dall'**ambiente**.

Come dicevamo, per quanto concerne l'origine evolutiva delle malattie croniche (e del loro rapido incremento) la teoria oggi più importante è quella, succitata, delle *Origini Fetalì delle Malattie dell'Adulto*, che pone come fattore chiave la mancata corrispondenza (**mismatch**) tra “previsioni” fetali e ambiente postnatale effettivo¹¹¹ (parola chiave n.5 del capitolo introduttivo). Ma, sulla base di quanto stiamo dicendo, sarebbe possibile avanzare una tesi ancora più “intrigante”: le malattie croniche potrebbero essere il portato anche di un secondo *stress* cellulare e tissutale, dovuto a una sorta di **mismatch filo-ontogenetico** tra DNA (l'*hardware*, prodotto da milioni di anni di evoluzione filogenetica) ed epigenoma (il *software*, risultante di nove mesi di sviluppo adattativo e predittivo).

A questo punto è quasi d'obbligo tornare alla splendida frase di Theodosius Dobzhansky, secondo cui per comprendere qualsiasi fenomeno biologico (e quindi biomedico) non si può mai prescindere dal contesto bio-evolutivo: il che significa, tra l'altro, che non bisognerebbe mai dimenticare che l'intera biosfera è il risultato di un lento e complesso processo di coevoluzione iniziato sulla terra circa 4 miliardi di anni fa¹¹².

Un'idea estremamente interessante, già implicita nella riflessione di Dobzhansky, ma meglio sviluppata da numerosi uomini di scienza nel corso del XX secolo (da *Schroedinger* fino a *Pryogine*)¹¹³, concerne la centralità dell'**informazione**. È infatti l'**informazione** insita nelle molecole e, in particolare, negli organismi - sulla cui essenza/origine immanente o trascendente, come sottolineato dallo stesso Dobzhansky, non avrebbe alcun senso, in ambito scientifico, interrogarsi - il fattore chiave, che permette agli organismi di evolvere¹¹⁴, in senso costruttivo e anti-entropico¹¹⁵.

Tutto questo equivale a dire che noi (i nostri apparati, organi e tessuti e le nostre molecole: *ormoni e citochine, recettori membranari ed enzimi cellulari, recettori nucleari e fattori di trascrizione, DNA e RNA...*) siamo il prodotto di **miliardi di anni di bio-co-evoluzione cibernetica, adattativa**.

E a questo punto possiamo finalmente formulare in modo più corretto quella che è forse la questione chiave di questa monografia: è mai possibile che la diffusione in ambiente e all'interno degli organismi di **migliaia di “nuove” entità chimiche** (molecole di sintesi o prodotti secondari di processi chimici o di reazioni termochimiche: alcuni autori anglosassoni hanno anche parlato di *fall-out* chimico.. termine che non può apparire eccessivo se si ricorda che sono oltre 100mila le molecole artificiali, cioè non lentamente co-evolute) e in particolare di quelle dotate di attività microbica e/o (epi)mutagena **non interferisca in modo significativo sugli equilibri eco-sistemici, e quindi sugli assetti metabolici, neuro-endocrini ed immunitari dei singoli organismi**, con pesanti ricadute sulla nostra salute e, in prospettiva, **sullo stesso processo bio-evolutivo**?

E ancora: sono già visibili nell'ambito della biosfera, degli ecosistemi microbici e virali, degli organismi superiori e in particolare della salute umana segni e sintomi riconducibili a questa, potenzialmente pericolosa trasformazione? È evidente che siamo di fronte ad una problematica di grande rilievo, che in questa sede non possiamo che affrontare analizzandone un aspetto del tutto marginale: gli effetti che questa drammatica trasformazione ambientale sta producendo **su una singola specie vivente**. Un aspetto certamente collaterale, ma non del tutto trascurabile, visto che la specie per così dire oggetto del nostro esame è proprio *Homo Sapiens Sapiens*, l'organismo superiore che è il vero artefice della grande trasformazione in oggetto e che rischia di pagare un prezzo molto alto.

CAPITOLO 7

VERSO UN NUOVO “PARADIGMA”: EPIGENETICA e RIVOLUZIONE EPIDEMIOLOGICA del XX SECOLO (PARTE B)

L’aver posto, nei primi anni ‘90, l’esigenza di incardinare la medicina nell’ambito della biologia e *quindi* della biologia evoluzionistica è stato essenzialmente merito di Randolph Nesse e George Williams, uno psichiatra e un biologo, che hanno anche cercato, in questo modo, di dare un fondamento epistemico più solido alla medicina. O almeno di tornare a cercarlo, se è vero che già alcuni dei padri fondatori della fisiologia e della medicina moderna (da Rudolf Virchow e Claude Bernard fino ad Hans Selye e Walter Cannon) avevano formulato teorie importanti sulla malattia come prodotto di una *crisi omeostatica* (locale o sistemica)¹¹⁶, di una *crisi dell’auto-regolazione* o anche di una *crisi teleonomica*.

D’altro canto, come abbiamo ripetutamente sottolineato, Nesse e Williams e la gran parte degli autori che in questi venti anni hanno partecipato al dibattito hanno fatto, inevitabilmente, riferimento alle grandi coordinate della varianza genetica e della selezione naturale, che rappresentano i cardini della *Sintesi neodarwiniana*.

Le coordinate utilizzate dai “pionieri” della medicina evoluzionistica sono stati efficacemente sintetizzate da Stefano Canali in questi termini: “*Il postulato che fa da sfondo al ragionamento evoluzionistico in medicina è che ogni individuo è espressione di un programma genetico e che tale programma rappresenta un prodotto storico e unico dell’evoluzione, plasmato dai meccanismi della filogenesi: variazione genetica e selezione naturale. Secondo la medicina evoluzionistica dunque i fenomeni epidemiologici, la specifica vulnerabilità individuale alle malattie, i modi e i tempi con cui ogni individuo risponde a un agente patogeno, si ammala o recupera la salute dipenderebbero anche da processi storici, filogenetici. Tale prospettiva, suggerisce che una spiegazione adeguata delle malattie non può arrestarsi all’esame delle cause prossime che innescano il processo patogenetico ma deve considerare l’azione di cause remote cioè far ricorso a categorie esplicative e argomentazioni di tipo evoluzionistico*”¹¹⁷.

Ci pare che la sintesi di Canali sia condivisibile e chiara e metta bene in evidenza i pregi e i limiti dell’approccio proposto dai principali autori che si sono fin qui prodigati per costruire la medicina evoluzionistica, fondandola, per così dire, sulla prima metà del modello da noi illustrato nel precedente capitolo: quella che fa riferimento alla filogenesi e al DNA come prodotto di questa e come “programma di base” per la costruzione del nostro fenotipo.

IPOTESI DI BARKER, IPOTESI IGIENICA E IPOTESI FLOGISTICA

A questo punto dovremmo cercare di **inserire concretamente nel modello l’altra metà dello schema da noi proposto, quella concernente la programmazione ontogenetica e la definizione epigenetica del programma genomico individuale definitivo**, nonché le coordinate proprie del modello *neo-lamarckiano*, che diano, finalmente, il giusto rilievo al ruolo giocato dall’**ambiente** e dalla sua recente, **drammatica trasformazione** ad opera dell’uomo e ai **nuovi modelli molecolari epigenetici**.

È quel che cercheremo di fare nel corso dei **prossimi capitoli**, in particolare in quelli dedicati a un’**interpretazione in chiave epigenetica e programmatica delle principali patologie** in aumento in tutto il mondo, nell’ambito di quella che abbiamo definito la Rivoluzione epidemiologica del XX-XXI secolo (malattie endocrino-metaboliche, del neurosviluppo e neurodegenerative. Ma prima dobbiamo riflettere in senso più generale

su cosa realmente significhi considerare tali *patologie croniche* (in particolare in quelle in cui è più evidente una componente flogistica) come l'espressione di una *crisi adattativa* (o se si preferisce, di un *processo re-attivo-adattativo* o del fallimento di questo) e quali siano i principali modelli patogenetici fin qui proposti, (*l'ipotesi di Barker, l'ipotesi igienica, l'ipotesi flogistica*) che potrebbero rivelarsi utili in tal senso.

Ma prima di analizzare brevemente i principali meccanismi adattativi/patogenetici che potrebbero essere all'origine di queste patologie e della trasformazione epidemiologica in atto, dobbiamo sottolineare, ancora una volta, che per giungere a una ridefinizione generale dell'intero paradigma biomedico, bisognerà modificare:

- *non solo* il **modello lineare e gene-centrico** secondo cui il nostro DNA conterrebbe il **programma** genetico di base, trasmessoci dai nostri antenati e necessario e sufficiente a modellare il nostro fenotipo e ad interpretare le sue modifiche in senso fisiologico e patologico,
- *ma anche* i correnti **modelli patogenetici lineari** secondo cui ad una singola causa (esposizione ad un agente infettivo o tossico o ad un mix di inquinanti) dovrebbe far seguito con sufficiente frequenza e costanza, in un dato lasso di tempo, un effetto ben definito e possibilmente riproducibile (ad es. una data patologia),
- in favore di **modelli più ampi e flessibili**, basati sull'assunto che le principali alterazioni fisio-patologiche rappresentano **tentativi di adattamento (epigeneticamente mediati) ai mutamenti ambientali** e che le principali modifiche epidemiologiche andrebbero interpretate come effetti di una trasformazione eccessivamente rapida delle **relazioni tra organismi e ambiente**.

In questa luce praticamente **tutte le patologie che negli ultimi decenni hanno mostrato un trend di crescita** veramente abnorme - asma/allergie e altre patologie immunomediate; alterazioni dello sviluppo psico-neurologico del bambino e patologie neurodegenerative dell'adulto; aterosclerosi e patologie cardio-vascolari; obesità e sindrome metabolica/insulino-resistenza/diabete II; tumori – andrebbero viste come il portato di uno **stress biologico ed (epi)genetico collettivo che coinvolge la nostra specie e, con ogni probabilità, tutti gli organismi superiori** (e in particolare quelli più direttamente esposti alle conseguenze della suddetta, repentina trasformazione ambientale)¹¹⁸.

Vogliamo anche sottolineare che una simile rappresentazione non si fonda su un modello puramente teorico e astratto, ma cerca di integrare alcuni modelli patogenetici estremamente interessanti, la cui validità sul piano scientifico è pressoché universalmente riconosciuta:

- l'**Hygiene Hypothesis**, secondo cui la rapida trasformazione del *challenge* microbico-virale nei primi anni della nostra vita e, in particolare, la recente trasformazione degli ecosistemi microbici esterni ed endogeni, recepite ed epigeneticamente mediate nelle prime fasi del nostro sviluppo embrio-fetale e post-natale¹¹⁹, determinerebbero uno squilibrio nello sviluppo del sistema immunocompetente e, in particolare, dei meccanismi della *tolleranza immunitaria*¹²⁰;
- la **Barker Hypothesis**¹²¹, poi sviluppata nella **DOHAD-Developmental Origins of Health and Diseases**¹²², in base alla quale la rapida trasformazione dell'ambiente esterno e delle catene alimentari si ripercuoterebbe, in ultima analisi, sul microambiente uterino e quindi sul feto, inducendo tutta una serie di modifiche epigenetiche adattative proprio in quelle cellule e tessuti che andranno a formare gli organi e i sistemi preposti al controllo metabolico ed alle relazioni con il mondo esterno¹²³;
- **l'ipotesi flogistica**, basata sul dato di fatto che in molte patologie cronico-degenerative e neoplastiche è presente una componente flogistica (**low grade systemic inflammation**)¹²⁴, che svolgerebbe un ruolo patogenetico importante e che dovrebbe essere essenzialmente ricondotta all'attivazione di alcuni meccanismi propri dell'immunità naturale (attivazione di *Toll-like* e *Notch receptors*, *danger signals*, *network* citochinici etc.) da parte di sostanze inquinanti, agenti ossidanti o molecole endogene alterate, in grado di innescare processi (auto)flogistici, (auto)reattivi e/o immuno-mediati¹²⁵.

Si tratta di teorie in genere abbastanza note, almeno nelle loro linee essenziali, che si sono andate però notevolmente trasformando nel corso del tempo e sulla base di nuovi dati epidemiologici e sperimentali. Ci limiteremo quindi ad accennare ad alcuni punti essenziali per la comprensione del ruolo che esse potrebbero svolgere

nell'ambito del modello patogenetico più complessivo e per così dire *neolamarchiano* che stiamo cercando di delineare.

L'IPOTESI IGIENICA

Il primo dei tre modelli che vogliamo rapidamente prendere in considerazione è rappresentato dalla cosiddetta *ipotesi igienica* (*Hygiene Hypothesis*) che, nata da una semplice constatazione epidemiologica (il rischio di riniti atopiche e dermatiti allergiche è inversamente correlato alle dimensioni della famiglia, all'ordine di natalità, *id est* all'entità e precocità dei contatti con agenti infettivi¹²⁶), si è andata via, via trasformando in una teoria di grande respiro, secondo cui l'esposizione sempre più tardiva e ridotta ad agenti microbici e parassitari, determinerebbe un incremento delle patologie immunomEDIATE e potrebbe essere persino all'origine della *transizione epidemiologica* in atto.

Una delle prime formulazioni convincenti dell'origine "disreattiva" dell'attuale transizione epidemiologica (caratterizzata da un chiaro gradiente Nord-Sud) comparve, infatti, nel 2002 sul *New England Journal of Medicine*, a firma di un noto immunologo francese che collegava esplicitamente, per il tramite appunto dell'ipotesi igienica, la rapida riduzione di malattie infettive e parassitarie acute verificatesi nell'ultimo mezzo secolo e l'altrettanto drammatico aumento di malattie cronico-degenerative e infiammatorie (in particolare asma e allergie, sclerosi multipla e diabete 1, infiammazioni croniche del grande intestino)¹²⁷.

Per quanto concerne le formulazioni più specifiche, basterà ricordare come l'ipotesi igienica si limitasse, in un primo tempo, a spiegare l'incidenza crescente di eczema atopico, rino-congiuntivite allergica e asma con la ridotta esposizione ai microbi in tenera età a causa di cambiamenti ambientali in tutto il mondo industrializzato. Questi includevano servizi igienici più efficienti e condizioni di vita "relativamente asettiche" (in rapporto a quelle "naturali") a causa delle sempre più ridotte dimensioni della famiglia, ai cambiamenti alimentari, all'utilizzo di immunoprofilassi di massa e terapia antimicrobica.

Gli studi epidemiologici e sperimentali che si sono susseguiti nei due decenni successivi alla prima formulazione hanno spinto vari autori a rivedere e riformulare l'ipotesi igienica. In particolare l'utilizzo di immunomodulatori ha dimostrato che l'ipotesi iniziale di uno squilibrio della risposta TH2/ TH1 (nel senso di un eccesso della prima e/o di un ritardata attivazione della seconda) dovrebbe essere almeno in parte rivista¹²⁸.

In secondo luogo la ricerca nel campo degli ecosistemi microbici interni e, in particolare, del microbiota intestinale e l'utilizzo di probiotici hanno dimostrato l'importanza della composizione degli ecosistemi microbici endogeni per un corretto sviluppo del sistema immuno-competente (e in particolare di una corretta tolleranza)... In terzo luogo si è capito che l'interazione ospite-microbi può influire sul rischio non solo di malattie immunomEDIATE, ma anche di altre malattie infiammatorie più o meno direttamente legate a stili di vita occidentali, tra cui obesità e diabete 2/sindrome metabolica. In particolare i risultati di diversi studi sperimentali suggeriscono che talune alterazioni nella composizione della flora batterica intestinale predispongono allo stoccaggio di energia e allo sviluppo di obesità¹²⁹.

Studi epidemiologici, clinici e sperimentali su animali hanno dimostrato che l'esposizione a un gran numero di germi commensali e non patogeni nei primi anni di vita determina una protezione, non solo contro le allergie IgE-mediate, ma anche contro diabete di tipo 1 e le patologie infiammatorie intestinale e che gli animali *germ-free* presentano gravi carenze nella regolazione immunitaria e risposte immunitarie eccessive. Vari autori hanno quindi sottolineato come tutto questo abbia poca relazione con l'igiene, nel senso comune della parola, per cui il termine *ipotesi igienica* sarebbe addirittura fuorviante e hanno proposto altre formulazioni, come quella di "***Ipotesi della privazione microbica***"¹³⁰.

Oggi, in estrema sintesi, possiamo affermare che l'*ipotesi igienica* sostiene, e in certa misura dimostra, come all'origine dell'*incremento pandemico* di numerose patologie immunomEDIATE e, più in generale, cronico-de-

generative e infiammatorie potrebbero esserci

- da un lato le **trasformazioni ambientali**, che si riflettono essenzialmente in un'alterazione degli ecosistemi microbici e parassitari "*naturali*" (che per milioni di anni hanno "allenato" e modellato i nostri sistemi difensivi) e, soprattutto, dell'**ecosistema microbico intestinale** (che non ha soltanto un ruolo maieutico e regolatore dello sviluppo del sistema immunocompetente, ma partecipa attivamente alla sua attività, vita natural durante),
- dall'altro le (connesse) alterazioni dello sviluppo e delle attività specifiche del sistema immunocompetente (ritardo dello *switch TH2-TH1*, irregolarità nei meccanismi di *tolleranza* ecc..) ¹³¹

L'IPOTESI DI BARKER e LA TEORIA DELLE ORIGINI FETALI DELLE MALATTIE DELL'ADULTO (DOHA)

Il secondo paradigma, forse meno noto, ma potenzialmente ancor più interessante, concerne la cosiddetta *Barker Hypothesis* che, originata a sua volta da alcune *osservazioni epidemiologiche* concernenti l'esistenza di una chiara relazione tra basso peso alla nascita e patologie endocrino-metaboliche e cardiovascolari dell'adulto ¹³², si è via, via trasformata in una teoria ancora più onnicomprensiva della precedente, secondo cui molte patologie cronico-degenerative e infiammatorie sistemiche dell'adulto (*aterosclerosi, patologie cardiovascolari, obesità, sindrome metabolica, insulinoresistenza/diabete, osteoporosi...*) e persino alcuni tumori sarebbero il prodotto di una inadeguatezza del *programming fetale*, dovuta ad alterazioni del microambiente uterino e/o a carenze ed errori nutrizionali materni e/o all'esposizione del feto a stimoli potenzialmente dannosi durante alcuni momenti critici ("*finestre*") dello sviluppo ¹³³.

Sulla base di quanto abbiamo scritto fin qui (vedi soprattutto le 7 parole chiave del nostro capitolo introduttivo) dovrebbe essere ormai evidente come questo sia, almeno a nostro parere, l'ambito di riflessione e di ricerca fondamentale per giungere alla formulazione di un "**nuovo paradigma**" in campo biomedico, fondato su un modello al contempo istruttivo, adattativo, predittivo e costruttivo di evoluzione biologica (sia in ambito *microevolutivo*, molecolare e, in particolare genomico, che in ambito *macroevolutivo*).

Dopo aver cercato di delineare le principali coordinate teoriche attinenti la costruzione di questo nuovo paradigma, torneremo a varie riprese, nei capitoli che seguono su alcuni aspetti specifici concernenti le prime formulazioni dell'ipotesi di Barker (in specie nel capitolo sulla pandemia di obesità e diabesità) e la sua progressiva trasformazione in teoria generale delle origini embrio-fetali, programmatiche, della nostra salute e delle malattie dell'adulto. Ci limiteremo, quindi, in questo capitolo a sottolineare alcuni aspetti specifici, attinenti il ruolo che l'ipotesi di Barker e la DOHA dovrebbero avere in questo contesto.

Il primo punto che dobbiamo ribadire concerne la novità del messaggio-base contenuto già, per così dire *in potenza*, nell'ipotesi di Barker, e poi meglio illustrato nella DOHA: possiamo dire, in sintesi, che sappiamo da decenni (almeno a partire dalle tragedie di Minamata, del Talidomide e del Dietilstilbestrolo) che **la vita prenatale non è completamente protetta nel microambiente uterino, ma che soltanto nell'ultimo decennio sono stati messi a fuoco i meccanismi e le modalità di esposizione** della madre e del prodotto del concepimento a tutta una gamma di agenti chimici (es.: *interferenti endocrini*), fisici (es.: *radiazioni ionizzanti*) e biologici (es.: *virus*) in grado di **modificare l'epigenoma fetale e di alterare la programmazione di tessuti ed organi secondo modalità non di rado irreversibili e, a volte, persino trasmissibili da una generazione all'altra**.

Sulla base dei concetti più volte specificati di *fetal programming*, *plasticità dello sviluppo*, *mismatch* programmatico (vedi capitolo introduttivo) sembra infatti potersi delineare un modello patogenetico unitario valido per la gran parte delle patologie umane cronico-degenerative, in crescita in tutto il mondo industrializzato: malattie

cardiovascolari ed endocrino-metaboliche (sindrome metabolica, insulino-resistenza e diabete II); patologie immuno-mediate (allergie, celiachia e malattie autoimmuni), disturbi dello sviluppo neuro-psichico; patologie dello sviluppo neuropsichico e neurodegenerative (autismo, ADHD, Alzheimer) e persino neoplastiche.. a partire da quella che è stata sinteticamente definitiva come teoria delle origini embrio-fetali delle malattie dell'adulto (*DOHAD: Developmental Origins of Health and Diseases*), basata su un meccanismo incredibilmente semplice e *universale* secondo cui tutta una serie di *informazioni*, provenienti dall'ambiente, sarebbero in grado di interferire con il normale processo di differenziazione cellulare e potrebbero tradursi in malattie destinate a rivelarsi dopo anni o decenni e persino nelle generazioni successive¹³⁴.

Un ulteriore “perfezionamento” del modello si avrebbe a partire dalla nozione, proveniente dalla biologia evoluzionistica, di *plasticità dello sviluppo*, secondo cui il **programma genomico specifico del singolo individuo si verrebbe a definire in modo predittivo e adattativo sulla base delle informazioni provenienti dall'ambiente, nel corso dei nove mesi dello sviluppo embrio-fetale.**

Dovrebbe essere ormai evidente come questo *nuovo paradigma* possa cambiare radicalmente la medicina occidentale. Soprattutto se si riconosce l'effettivo significato e il peso che sembrerebbe poter avere quella che è stata di recente definita come **eredità epigenetica transgenerazionale**¹³⁵.

Con questa formula ci si riferisce alla possibile **trasmissione per via germinale** di un determinato assetto epigenetico e quindi per via transgenerazionale di **fenotipi alterati**¹³⁶, in assenza di una diretta esposizione del soggetto ad agenti (epi)genotossici¹³⁷. Il punto chiave consiste nel fatto che l'epigenoma germinale subisce la riprogrammazione durante lo sviluppo gonadico del feto¹³⁸; il che significa che **le ripercussioni di questo che potremmo definire fetal programming gonadico si vedranno soltanto nelle generazioni successive a quella esposta e che alcune delle modifiche epidemiologiche che stiamo registrando in questi anni potrebbero essere la conseguenza dell'esposizione dei nostri diretti progenitori.**

Vedremo in maggior dettaglio tutto questo nei capitoli attinenti alla pandemia di obesità e all'incremento di patologie del neurosviluppo. Per il momento ci limitiamo a sottolineare come, contrariamente a come si pensava fino ad alcuni anni fa alcune **modifiche epigenetiche e genetiche nelle cellule germinali**, probabilmente indotte da fattori ambientali e/o da condizioni di **stress embrio-fetale**, potrebbero diventare **permanenti** (similmente a quanto avviene per l'*imprinting* genico¹³⁹). La linea germinale trasmetterà alcune di queste marcature epigenetiche e mutazioni genetiche (in particolare alcune modifiche quantitative della sequenza del DNA) allo zigote e quindi **a tutte le cellule somatiche del soggetto**, aprendo la strada a numerose patologie

In ambito sperimentale, già alcuni anni fa si scoprì che talune sostanze chimiche, in genere interferenti endocrini, come il fungicida *vinclozolina*¹⁴⁰ e il pesticida *metossicloro*¹⁴¹, potevano indurre malattie in animali adulti attraverso meccanismi di eredità epigenetica transgenerazionale¹⁴². Gli autori di tali ricerche intuirono fin dall'inizio che tale meccanismo potesse svolgere un ruolo importante anche a livello umano¹⁴³ e suggerirono che le variazioni epigenetiche transgenerazionali potrebbero essere utilizzate come **bio-marcatore** di esposizione e malattia¹⁴⁴. Ma come abbiamo visto e come meglio vedremo, **non soltanto l'esposizione a sostanze epi-genotossiche, ma anche carenze e variazioni nutrizionali** (restrizioni o eccessi calorici) durante il periodo embrio-fetale possono indurre modifiche fenotipiche, potenzialmente adattative nel medio-lungo termine, ma tanto fisiologiche che patologiche negli effetti immediati e, almeno in parte, ereditabili¹⁴⁵.

È anche importante sottolineare come risultati simili siano stati ottenuti da vari gruppi di ricercatori indipendenti, e avrebbero potuto e dovuto già **rivoluzionare il nostro modo di pensare**¹⁴⁶ circa le potenziali conseguenze a lungo termine che potrebbero derivare per la nostra specie e per **l'intera biosfera**, se è vero che forme di **eredità epigenetica transgenerazionale** sono state documentate anche in piante¹⁴⁷, vermi¹⁴⁸ e insetti¹⁴⁹ oltre che, come detto, in topi, ratti ed esseri umani¹⁵⁰.

L'IPOTESI FLOGISTICA

Il terzo modello patogenetico che dovrebbe esser preso in considerazione per la comprensione della transazione epidemiologica in atto potrebbe essere definito come *ipotesi flogistica*, e trova la sua prima ragion d'essere nel dato di fatto che praticamente in tutte le patologie cronico-degenerative in aumento nel mondo **semberebbe essere presente e svolgere un ruolo chiave un processo infiammatorio subacuto o cronico** di varia intensità.

Tale discorso è ovviamente valido per quanto concerne tutte le *patologie immunomediate*: tanto per le allergie in senso stretto, quanto per le malattie autoimmuni. Al fatto che l'incremento tanto delle prime, che delle seconde abbia richiesto una parziale rimodulazione dell'*Ipotesi igienica*, inizialmente basata sull'ipotesi di un ritardato *switch* TH2-TH1 abbiamo già accennato. Potrebbe essere, caso mai, utile sottolineare come negli ultimi anni anche per quanto concerne le malattie autoimmuni sistemiche classiche (LES, artrite reumatoide etc.) ci si sia andati convincendo che prima che entrino in campo i meccanismi patogenetici dell'immunità adattativa, tipici del quadro conclamato e definitivo, potrebbero essere i meccanismi dell'immunità naturale a svolgere un ruolo patogenetico importante e lungamente sottovalutato; e come, d'altro canto, in molte patologie allergiche sia, nel medio lungo termine, piuttosto la componente flogistica connessa al perdurare dell'esposizione allo stimolo ambientale flogogeno/antigenico ed ai processi di riparazione del danno (in particolare del *remodeling* del tessuto danneggiato) ad assumere un ruolo preponderante¹⁵¹. E questo, ancora una volta, non soltanto nelle patologie immunomediate classiche (*asma allergico, immuno-artriti, immuno-vasculiti*, ivi compresa, in ambito pediatrico, la *Kawasaki Disease*), ma anche per quella che è la *vasculite cronica-sistemica* per antonomasia, l'*aterosclerosi*, da anni descritta come processo primariamente ed essenzialmente flogistico, prima e più che patologia metabolico-degenerativa¹⁵².

Ma è importante ricordare come una componente flogistica significativa sia presente anche nelle principali **malattie metaboliche**, a cominciare dall'**obesità** e dal **diabete 2/sindrome metabolica**¹⁵³: da anni sappiamo, infatti, che il tessuto adiposo ben più che un semplice tessuto di riserva, è un vero e proprio organo endocrino-metabolico e immunitario, in grado di produrre un'ampia gamma di molecole segnale, ormoni e citochine e che un gran numero di *macrofagi attivati* è presente nel tessuto adiposo infiammato degli obesi¹⁵⁴. È anzi interessante ricordare come siano oggi due le ipotesi fondamentali concernenti l'origine stessa dell'epidemia di diabete 2 e i suoi legami con la "pandemia madre" di obesità: quella che pone come fattore patogenetico fondamentale il **sovraccarico lipidico** delle cellule adipose ipertrofiche e quella che ipotizza un ruolo patogenetico fondamentale alla condizione di **infiammazione cronica** di bassa intensità tipica del tessuto adiposo dell'obeso¹⁵⁵.

Vedremo, poi, come anche nelle **patologie del neurosviluppo** (a cominciare dai disturbi dello spettro autistico), in molte **malattie psichiatriche** (ivi comprese schizofrenia e depressione) e soprattutto nelle **patologie neuro-degenerative croniche** (in particolare nella Malattia di Alzheimer, nel Morbo di Parkinson e nella Sclerosi Laterale Amiotrofica) sia stato riconosciuto da tempo il ruolo patogenetico fondamentale svolto dall'infiammazione cronica e dallo **stress** ossidativo associato.

È infine importante ricordare e sottolineare che anche **infiammazione e cancro** sono processi strettamente associati tra loro: come avevano già intuito i patologi classici, sottolineando come **molti tumori maligni insorgano in tessuti lungamente esposti a stress e infiammazione**¹⁵⁶ e come confermato dalla ricerca più recente, che ha mostrato come **le pathways fondamentali dell'infiammazione cronica** siano implicate e svolgano un ruolo fondamentale nell'ambito della cancerogenesi¹⁵⁷ e dimostrato il **ruolo pro-cancerogeno fondamentale svolto dai macrofagi attivati, dalle citochine e dallo stress ossidativo cronico**¹⁵⁸.

APPENDICE AL CAPITOLO 7

UNA CONDIZIONE DI *INFIAMMAZIONE SUBACUTA DI BASSA INTENSITÀ*

In un articolo pubblicato nel 2004 su *Science* si sosteneva che 20.000 anni fa *Homo Sapiens* soffriva di uno stato di *infiammazione cronica di basso grado* a causa di uno *stress* immunitario da *challenge* microbico-virale continuo, e che questo *stress* sistemico (propagato dalla continua produzione di citochine infiammatorie e proteine dello *stress*) fosse la vera causa della limitata sopravvivenza dei nostri progenitori, visto che, notoriamente, uno stato di infiammazione subacuta apre la strada a tutta una serie di patologie e, in particolare all'aterosclerosi e, quindi, agli incidenti cardiovascolari acuti. L'articolo suscitò tutta una serie di critiche indubbiamente legittime e pertinenti: si trattava infatti di una tesi essenzialmente speculativa che non avrebbe potuto essere in alcun modo verificata o falsificata. Ma l'idea di fondo era corretta e interessante e può aiutarci a comprendere come mai la gran parte dell'umanità sembra essere tornata in una condizione di *infiammazione cronica di basso grado*, che caratterizza e probabilmente contribuisce alla genesi delle sempre più frequenti e precoci patologie croniche che funestano la nostra vita: obesità e sindrome metabolica, malattie del neuro-sviluppo e neurodegenerative, patologie allergiche e autoimmuni, cancro. In pratica di quella che abbiamo definito come *Rivoluzione epidemiologica del XX secolo*. Solo che al giorno d'oggi a determinare uno stato di continua di allerta nella nostra immunità naturale e il conseguente *stress* sistemico non è il continuo *challenge* microbico, ma, con ogni probabilità l'esposizione precoce (già prenatale) e collettiva a tutta una serie di "nuovi" agenti inquinanti.

In un interessante articolo comparso qualche anno fa su *Science*, si ipotizzava che il grande incremento nell'attesa di vita registrato nel corso degli ultimi decenni, almeno nei paesi avanzati, non sarebbe dovuto soltanto ai sensibili miglioramenti igienico-sanitari e nutrizionali, ma anche al ridotto impatto che le frequenti malattie infettive avrebbero avuto per millenni sulla salute umana, per il tramite di una flogosi cronica che avrebbe avuto inizio nelle prime fasi della vita e sarebbe durata fino all'età adulta. Secondo l'autore un carico microbico e parassitario precoce e persistente e le connesse reazioni immuno-flogistiche si sarebbero infatti tradotte in una *endotelite* sistemica e, per il tramite di questa, in una condizione di infiammazione sistemica, subacuta o cronica, latente ma progressiva, con aumentato rischio di infarto, di ictus e di cancro¹⁵⁹.

L'articolo suscitò un vivace dibattito sulla rivista e critiche pertinenti. A fornire una prova quasi risolutiva della fragilità dell'ipotesi avanzata dagli autori dell'articolo di *Science*, sono stati soprattutto gli studi antropologici che hanno dimostrato come nelle poche comunità tradizionali residue di cacciatori-raccoglitori non ci siano particolari segni di infiammazione: come anzi aterosclerosi, ipertensione, patologie cardiovascolari, obesità e diabete - tutte patologie tipiche del mondo moderno, notoriamente caratterizzate da note di infiammazione sistemica - siano praticamente sconosciute¹⁶⁰.

È invece importante ricordare come sia proprio nelle popolazioni del Nord del pianeta che è stato recentemente confermato, in diversi ambiti di ricerca¹⁶¹ un possibile nesso tra condizioni precoci e protratte di *stress* psico-fisico, in grado di tradursi in uno stato di *infiammazione sistemica latente e persistente* e di aprire la strada a patologie proprie dell'età adulta. È anzi sempre più evidente che una vera e propria condizione di *infiammazione subacuta di bassa intensità, ma lentamente progressiva*, caratterizza gli abitanti del mondo moderno fin dai primissimi giorni di vita (e, in alcuni casi, addirittura già *in utero*) ed esercita un ruolo patogenetico importante praticamente **in tutti i processi cronico-degenerativi**: aterosclerosi¹⁶², obesità e sindrome metabolica¹⁶³, patologie allergiche e immunomEDIATE, del neuro-sviluppo¹⁶⁴, neurodegenerative¹⁶⁵ e neoplastiche¹⁶⁶.

La principale differenza tra la *flogosi persistente e progressiva* del lontano passato, ipotizzata dall'articolo di

Science, e quella tipica dei giorni nostri, sembrerebbe consistere, caso mai, nella diversa natura degli agenti in grado di innescare il processo: se nel lontano passato si sarebbe trattato essenzialmente di agenti microbici e parassitari, nel mondo moderno sarebbero piuttosto in causa i numerosi agenti inquinanti - **metalli pesanti, particolato ultrafine, idrocarburi poliaromatici** – che, come vedremo nei prossimi capitoli, hanno stabilmente invaso l'atmosfera delle nostre città e le catene alimentari, si sono accumulati nei tessuti materni, sono passati, attraverso il cordone ombelicale, al feto e sono infine penetrati nei tessuti in via di differenziazione (endoteli, sistema neuro-endocrino..) determinando una loro progressiva “*s-programmazione*” (da intendere nei termini di una **progressiva instabilità (epi)genetica e, quindi, di una sorta di “sensibilizzazione” nei confronti di successive esposizioni agli stessi o ad altri agenti inquinanti**)¹⁶⁷.

Ma da dove sono venuti questi “inquinanti” tanto pericolosi? Come diffondono nell'ambiente e, soprattutto, come penetrano nel nostro organismo e quali effetti possono produrvi?

Indubbiamente le vie inalatoria e alimentare sono, sia per i bambini che per gli adulti, le vie più comuni di accesso dei principali inquinanti, una parte dei quali passerà anche in circolo e si accumulerà in vari organi e tessuti, penetrerà nelle cellule e persino nel nucleo, interferendo con le principali *pathways* cellulari e, come detto, con lo stesso genoma.

Non ci é possibile, in questa sede, soffermarci sui diversi inquinanti e sui processi biochimici che ne determinano, favoriscono o limitano l'azione e la tossicità. Ci limiteremo, nei prossimi due capitoli, a trattare per sommi capi due argomenti particolarmente emblematici:

- **l'inquinamento atmosferico**, quale forma di inquinamento più diffusa e pericolosa, alla quale sono ormai cronicamente esposti, praticamente per tutti i giorni della loro vita, gli esseri umani e in particolare quelli inurbati (cioè più della metà della popolazione mondiale) senza grandi possibilità di difesa (visto che l'inquinamento *indoor* può addirittura essere, almeno in alcune situazioni, altrettanto e più consistente e pericoloso di quello *outdoor*, a causa del sommarsi degli inquinanti esterni e di quelli interni come radon, formaldeide, solventi, vernici, muffe, fumo passivo, insetticidi domestici ecc.)¹⁶⁸;
- **gli effetti dell'inquinamento sui bambini**, che rappresentano la parte della popolazione più esposta e più a rischio: sia in ragione delle loro esigenze e dei loro comportamenti; sia a causa dello stato di insufficiente maturazione dei loro organi, tessuti, sistemi di difesa e meccanismi detossificanti; sia per la particolare suscettibilità agli effetti dell'inquinamento di un organismo in via di sviluppo; sia, infine, in ragione del prevedibilmente lunghissimo periodo di esposizione.

Trattando dell'inquinamento atmosferico cercheremo soprattutto di mettere a fuoco il ruolo chiave di quello che é, a nostro parere, l'emblema del “**nuovo inquinamento**”: **il particolato ultrafine**, un agente inquinante, **onnipervasivo, invisibile, estremamente bio-lesivo e pochissimo considerato da normative ed enti deputati al controllo della qualità dell'aria**, che è probabilmente la causa più diretta di **stress ossidativo** sistemico; che fa da veicolo ideale agli altri inquinanti attraverso le **barriere biologiche** (la barriera ematocerebrale, gli endoteli alveolari, le membrane plasmatiche e nucleari, la placenta..); che può agire direttamente da agente **epigenotossico...** che rappresenta insomma la causa più importante di quell'**infiammazione subacuta di basso grado** che, come visto, ci accompagna per tutta la vita.

CAPITOLO 8

INQUINAMENTO ATMOSFERICO: UNO SPETTRO SI AGGIRA PER LE CITTÀ DELL'UOMO

Per 20 anni, gli studi scientifici e medici hanno mostrato che le più piccole particelle di nerofumo nell'aria sono di gran lunga le più pericolose. Ma il governo si è sempre rifiutato di regolamentare o addirittura di misurare questi assassini invisibili. Ora abbiamo la prova che i regolamenti governativi più "severi" stanno facendo aumentare il numero di queste particelle¹⁶⁹

Uno Spettro si aggira per le nostre città, uccide ogni giorno migliaia di donne e uomini, avvelena lentamente, ma inesorabilmente i nostri bambini, minando la loro salute per tutta la vita. Lo sappiamo ormai da decenni, ma i governi di tutto il mondo e le stesse istituzioni internazionali deputate alla salvaguardia della nostra salute fanno pochissimo per contrastarne l'azione devastante e continua. Come mai?

Certo le conoscenze in materia non sono ancora sufficientemente diffuse e condivise. Certamente si dirà che gli interessi in campo sono enormi e che le *corporations* impediscono in mille modi che si faccia chiarezza. Qualcuno cercherà addirittura di dimostrare che *Big Pharma*, avendo tutto l'interesse a mantenere questo stato di cose, non solo si guarda bene dal promuovere e finanziare la ricerca, ma fa di tutto per nascondere e confondere i dati e le idee, interferisce negativamente sul mondo degli Istituti e delle Accademie deputate a diffondere scienza e conoscenza, intralcia la carriera dei pochi ricercatori che cercano di far chiarezza su questa delicata materia¹⁷⁰.

Ma la verità è forse un'altra, al contempo più semplice e comprensiva e, del resto, non del tutto in contrasto con le tesi sopra esposte: la gran parte dei cittadini di questo mondo non può e non vuole sapere, perché non intende rinunciare ai vantaggi materiali e alle comodità che l'attuale Sistema di produzione e distribuzione dei beni di consumo ci offre. Perché questo **Spettro** non è altro che l'**Ombra**, la componente oscura, ma quasi inevitabile, di quello che ci ostiniamo a chiamare Sviluppo e/o Progresso.

In effetti una parte consistente della popolazione colta del Nord del pianeta sa che l'inquinamento atmosferico prodotto dai milioni di eventi di combustione artificiale sparsi per il mondo (mezzi di trasporto, centrali energetiche e industrie in senso lato) causa milioni di morti ogni anno. Ma nella gran maggioranza dei casi pensa anche che si tratti di un prezzo inevitabile da pagare per mantenere in vita il Sistema produttivo e culturale oggi dominante, che comunque produce benessere (almeno sul piano materiale e nei paesi dominanti), cura la gran parte delle malattie (soprattutto quelle infettive che hanno dominato la vita dei nostri predecessori, al tempo delle "pestilenze e della fame" e delle "ultime epidemie", ipostatizzati nell'ambito della già citata teoria della *Transizione epidemiologica*¹⁷¹) e prolunga la durata della nostra vita, pur contribuendo alla diffusione di patologie cardiorespiratorie e tumorali destinate a renderne meno piacevole l'ultima parte.

Il discorso non fa una grinza. A meno che.. A meno che non si riesca a dimostrare che quel che chiamiamo inquinamento e in particolare quel che designiamo con il binomio inquinamento atmosferico

- non consista soltanto in un incremento più o meno significativo di alcuni inquinanti che possono favorire infarti, crisi asmatiche e ictus nei soggetti più fragili o predisposti per motivi costituzionali o di età, ma in un vero e proprio mix di gas tossici, metalli pesanti, molecole persistenti che penetrano attraverso le vie aeree, raggiungono il sangue, superano tutte le membrane biologiche (ivi compresa la placenta, la barriera

emato-cerebrale, le membrane plasmatica e nucleare...), penetrano nel sistema nervoso centrale e nei tessuti embrio-fetali in via di formazione, interferiscono con tutti i meccanismi di segnalazione intercellulare e intracellulare e, di conseguenza, con tutti i principali meccanismi biochimici e molecolari, ivi comprese le tappe fondamentali dell'espressione genica (favorendo le modifiche dell'assetto cromatinico, interferendo con la trascrizione e la traduzione delle sequenze geniche (codificanti) e con il *folding* proteico, inducendo il trasferimento di alcune "famiglie" di sequenze mobili deputate alla ri-formattazione genetica continua/reattiva di alcuni tessuti e in particolare del tessuto cerebrale);

- non si limiti a produrre circa 400 morti al giorno, ma sia uno dei principali determinanti di quello stato di infiammazione sistemica cronica o subacuta di basso-grado che ci accompagna per gran parte della nostra vita e che apre la strada a: aterosclerosi e malattie cardiovascolari e cerebrovascolari connesse; malattie immunomediate come allergie e malattie autoimmuni; patologie endocrino-metaboliche, tra cui obesità e diabete; patologie del neurosviluppo e neurodegenerative; tumori.. non a caso tutte patologie in grande, inarrestabile aumento;
- e, soprattutto, interferisca con i processi di differenziazione e proliferazione cellulare che concernono *tanto* le cellule staminali dei vari tessuti in soggetti adulti (specie in caso si *stress* o danno tissutale), aprendo la strada a processi proliferativi e differenziativi patologici (disreattivi e pro-neoplastici); *quanto* le cellule embrio-fetali durante l'intero periodo dello sviluppo ontogenetico, condizionando per tutta la vita lo sviluppo di organi e tessuti; *quanto*, infine, i gameti...

Per meglio affrontare una simile problematica e per mostrare, a partire da centinaia di studi e ricerche sempre più sofisticate, come l'azione continua, persistente (quotidiana, dal momento del concepimento, alla nascita, alla morte), dei principali inquinanti presenti nell'atmosfera delle nostre città e/o delle zone industriali e/o delle nostre case e, di conseguenza, nel nostro sangue, nei nostri tessuti, nel sangue placentare e cordonale possa produrre le conseguenze e i danni sopra esposti è sufficiente accennare alle principali modalità d'azione e diffusione e ai meccanismi patogenetici di alcuni di questi inquinanti e in particolare del **particolato ultrafine**, che per molti versi rappresenta il prototipo di questo inquinamento sempre più onnipervasivo (l'inquinamento *indoor* essendo, come detto, paragonabile e, secondo alcuni autori, a volte persino peggiore di quello *outdoor* in alcune città occidentali e nei cosiddetti paesi in via di sviluppo, a causa dell'esposizione prevalente di donne, bambini e anziani all'inquinamento dovuto alla combustione casalinga di biomasse)¹⁷².

● Sui rischi del *particolato ultrafine*

Con il termine particolato (PM) ci si riferisce a tutte le particelle solide o liquide sospese nell'aria e in genere classificate in base al loro diametro aerodinamico: con il termine PM10, spesso impropriamente usato per designare il particolato in genere, ci si dovrebbe riferire esclusivamente alla componente più grossolana (*coarse*) e meno pericolosa in quanto a causa delle sue dimensioni (tra 2,5 e 10 μm) è trattenuto (e trasformato) nelle alte vie respiratorie¹⁷³; con PM 2,5 si indica la componente intermedia con diametro di 2,5 μm o meno (PM fine); infine con PM 0,1 si designano le **particelle ultrafini**, aventi un diametro di meno di 0,1 μm , che sono di gran lunga le più pericolose per la loro capacità di raggiungere direttamente le vie aeree inferiori, bypassando tutte le barriere anatomiche e funzionali, di oltrepassare la parete degli alveoli, di penetrare nelle cellule (a partire dai macrofagi, che formano la prima linea di difesa già negli alveoli polmonari, alterandone le funzioni di immuno-mediazione e fagocitosi)¹⁷⁴ e nel torrente circolatorio e di attraversare tutte le membrane biologiche (ivi compresi la barriera emato-cerebrale¹⁷⁵ e il filtro placentare)¹⁷⁶.

Il **particolato ultrafine** (UFPs: Ultrafine Particles e/o nanoparticles/nanoparticelle¹⁷⁷) comprende insomma le più piccole particelle carboniose presenti nell'atmosfera delle nostre città e aree industriali, e generate per combustione¹⁷⁸ - da camion, auto, motocicli (i motori diesel essendone i maggiori produttori¹⁷⁹, con un tasso di emissione di circa 10¹⁵ UFPs per ogni chilometro di viaggio¹⁸⁰) e impianti industriali che bruciano carbone¹⁸¹, petrolio, gas naturale, biomasse¹⁸² o rifiuti¹⁸³ - o per conversione gas-particella (solfati, nitrati, alcuni composti organici)¹⁸⁴.

Un dato, spesso trascurato anche dagli esperti, che aggrava notevolmente la pericolosità di questo tipico inquinante “moderno”¹⁸⁵ concerne la sua persistenza in ambiente. È stato infatti dimostrato che le **UFPs possono rimanere in sospensione in aria per parecchi giorni ed essere trasportate per migliaia di chilometri**¹⁸⁶: si capisce quindi come mai esse siano praticamente onnipresenti nell’atmosfera delle nostre città¹⁸⁷.

È anche importante sottolineare come a confronto con le particelle più grandi, le UFPs presentino una superficie enormemente più estesa in rapporto al volume: possono quindi **trasportare grandi quantità di sostanze inquinanti adsorbite** e hanno **potenzialità pro-ossidative e pro-infiammatorie** di gran lunga superiori alle particelle di taglia superiore¹⁸⁸. In un esperimento di laboratorio ormai “classico”, topi esposti a UFPs di biossido di titanio (TiO₂) mostrarono una **risposta infiammatoria** di gran lunga superiore a quella di topi esposti ad analoghe particelle fini, proprio a causa dell’elevato rapporto superficie/volume¹⁸⁹.

In ambito umano la stessa correlazione è stata dimostrata in soggetti asmatici, tra i quali un’esposizione a UFPs ha un effetto assai maggiore che non un’esposizione a particolato fino o grossolano¹⁹⁰. Inoltre è stato dimostrato che l’inalazione di particelle UFPs di *black-carbon* può indurre asma infiammatorio-allergico tanto in animali da esperimento¹⁹¹ che in soggetti sensibili¹⁹².

Una prima importante riprova della facilità con cui le UFPs oltrepassano la parete alveolare, penetrano in circolo e raggiungono e danneggiano altri tessuti ed organi viene dalla maggior frequenza e gravità degli effetti cardiovascolari rispetto a quelli concernenti le vie aeree¹⁹³: parafrasando un classico aforisma concernente la malattia reumatica potremmo dire che **il particolato ultrafine e, più in generale, l’inquinamento atmosferico sfiora i polmoni (dove può comunque favorire processi flogistici cronici**¹⁹⁴, **broncopatie croniche ostruttive**¹⁹⁵ **e fibrosi**¹⁹⁶) e colpisce ancor più duramente cuore, endoteli¹⁹⁷ e altri tessuti.

Numerosi studi epidemiologici documentano l’associazione tra particolato e morbidità e mortalità cardiovascolare¹⁹⁸. Tra i meccanismi accertati hanno un ruolo significativo disturbi del controllo vagale e del ritmo cardiaco¹⁹⁹, ma soprattutto **alterazioni progressive a carico degli endoteli (disfunzione endoteliale) in grado di produrre alterazioni pro-trombotiche**²⁰⁰ e una condizione generale di **flogosi subacuta sistemica di bassa intensità che apre la strada all’aterosclerosi**²⁰¹.

Le modalità con cui si attua la traslocazione delle UFPs in circolo e in vari organi sono state oggetto di numerosi studi, che hanno documentato in animali di laboratorio il loro passaggio in reni fegato e cuore²⁰² e soprattutto al **cervello, attraverso il nervo olfattivo**²⁰³. È stato anche dimostrato come un’esposizione prolungata a UFPs possa provocarne l’accumulo in vari organi extrapolmonari, provocando l’insorgenza di patologie anche dopo decenni²⁰⁴.

Come detto uno dei meccanismi-base del danno da UFPs è lo **stress ossidativo, tanto distrettuale che sistemico**.

È stato dimostrato come il particolato ultrafine provochi la formazione di ROS (*radicali dell’ossigeno*) in quantità notevolmente superiori rispetto al particolato di dimensioni maggiori²⁰⁵, e possa così **danneggiare e/o interferire gravemente con il funzionamento delle principali bio-molecole (DNA, proteine e lipidi)**²⁰⁶. In molti studi sono stati infatti documentati, nei soggetti esposti, *stress* ossidativo sistemico e danni al DNA²⁰⁷.

Anche la composizione delle UFPs è fondamentale: provenendo da processi di combustione il particolato ultrafine **trasporta, infatti, molecole tossiche che sono causa di ulteriore stress ossidativo e potenzialmente mutagene e cancerogene come metalli pesanti, idrocarburi poliaromatici, diossine e molecole diossino-simili**²⁰⁸.

Analisi di campioni di **ceneri volanti prodotte da inceneritori** di rifiuti hanno dimostrato che la composizione chimica della frazione ultrafine è significativamente diversa da quella delle frazioni fini e grossolane. In particolare si è osservato che la frazione ultrafine contiene alte concentrazioni di Cu, Pb, Cr, Mn, Zn, As, Se, Cd, Hg ecc.²⁰⁹: in alcuni casi, **la concentrazione dei metalli è anche 50 volte superiore a quella delle**

particelle fini e grossolane²¹⁰, con ulteriori gravi conseguenze sulla salute, viste le **potenzialità reattive e catalitiche** dei metalli.

Possiamo riassumere quanto detto in questi termini: se, come è ormai chiaramente dimostrato da centinaia di studi scientifici, il **particolato ultrafine** col suo carico di IPA, molecole diossino-simili, metalli pesanti²¹¹, viene inalato, *by-passa* le vie aeree superiori (e quindi tutti i dispositivi fisiologici di difesa: muco, apparato ciliare, enzimi detossificanti²¹²); raggiunge gli alveoli²¹³ dove intasa e paralizza i macrofagi²¹⁴, inducendoli a produrre citochine e chemochine²¹⁵ che innescano uno stato di flogosi locale latente ma progressiva (con **stress ossidativo** protratto²¹⁶, potenzialmente mutageno e **pro-cancerogeno**²¹⁷) e, mediante il rilascio di altri mediatori chimici, aprono la strada ad uno stato di **flogosi subacuta sistemica**²¹⁸; attraversa le pareti alveolari e penetra nel torrente circolatorio dove determina una endotelite, lentamente progressiva, dapprima distrettuale e poi sistemica²¹⁹, aprendo la strada a quella che può essere definita la vasculite sistemica per eccellenza, **l'arterosclerosi**²²⁰ che, non per caso diviene patologia sempre più precoce²²¹, favorendo l'insorgenza di una vera e propria (mio)cardite reattiva²²² e determinando l'insorgenza di trombosi²²³, infarti e ictus²²⁴ tra le popolazioni esposte²²⁵ (e in particolare tra le donne²²⁶, "naturalmente" meno soggette a tali problemi, grazie all'ombrello protettivo estrogenico); penetra in tutti i tessuti e organi nobili e segnatamente nel SNC²²⁷ dove si accumula favorendo l'instaurarsi di stress ossidativo e flogosi lentamente progressive²²⁸ aprendo la strada alle principali **patologie neuro-degenerative croniche** (in continua, drammatica espansione in tutto il mondo industrializzato)²²⁹ ecc..

Se, dicevamo, tutto questo è vero e ormai più che provato, ha ancora senso parlare di "3 milioni di morti in eccesso imputabili all'inquinamento atmosferico".. o dobbiamo ammettere che, pur trattandosi di una cifra considerevole, si riferisce soltanto alla **punta dell'iceberg**?

● Alcune riflessioni conclusive

E ancora: se tutto questo è documentato da centinaia di studi tossicologici, eco-tossicologici, epidemiologici, è eccessivo parlare di uno **Spettro** che si aggira per le nostre città, minando la nostra salute e soprattutto quella dei nostri bambini? Non dovrebbe essere avvertita come improrogabile da parte di ricercatori, medici, operatori sanitari l'esigenza di una **immediata riduzione di tutte le fonti non necessarie (e in larga misura sostituibili) di produzione di particolato ultrafine, con il suo carico di metalli e molecole cancerogene?**

È ormai evidente come tutti i suaccennati meccanismi patogenetici siano stati, nel giro di pochi anni, dapprima ipotizzati, poi studiati e confermati in laboratorio su cavie e su linee cellulari umane, infine avvalorati da **ampi studi epidemiologici**. Tra i più impressionanti, è importante citare quelli, fin qui indubbiamente sottovalutati, condotti da un gruppo di pediatri e ricercatori americani e messicani, dapprima su **cani** in città particolarmente inquinate, quindi sugli esseri umani e in particolare sui **bambini** ivi residenti, che hanno dimostrato un chiaro nesso tra inquinamento ambientale (con particolare riferimento a particolato ultrafine/metalli pesanti), flogosi cronica sistemica e distrettuale a carico delle vie aeree e del SNC, stress ossidativo e attivazione dei suaccennati meccanismi patogenetici, incremento di malattia di Alzheimer e di altre patologie neurodegenerative e neoplastiche²³⁰.

I lavori dei pediatri americani e messicani impongono una *riflessione* più approfondita.

Se già i dati suesposti appaiono allarmanti per quanto rischia di prodursi tra gli adulti della nostra specie, il progressivo aumento di patologie cronico-degenerative, flogistiche e neoplastiche tra le popolazioni più esposte dovrebbe essere valutato come un segnale di allarme per il futuro, oltre che come indice di una drammatica realtà già in atto: il discorso, infatti, si fa ancora più preoccupante per ciò che concerne le **generazioni future**. E questo non soltanto per l'evidente ragione che un'esposizione sempre più massiva e precoce a molecole e

fattori inquinanti mette seriamente a rischio la salute dei bambini attuali, ma anche e soprattutto in ragione del già descritto **bioaccumulo progressivo di inquinanti nei tessuti materni**; dell'altrettanto ben documentato trasferimento degli stessi e del particolato ultrafine inalato/ingerito dalla madre, **attraverso la placenta, al feto**²³¹ e quindi a organi e tessuti particolarmente fragili perché in via di sviluppo, primo fra tutti il SNC (con susseguenti e ben documentate interferenze sui processi di *neurogenesi*, *sinaptogenesi*, *mielinizzazione*)²³²; di quanto già detto a proposito delle possibili alterazioni epigenetiche e genetiche a carico dei gameti e della susseguente **eredità epigenetica transgenerazionale**²³³.

Possiamo anche ricordare, a questo proposito, come sia stato sperimentalmente dimostrato, non solo su cavie murine ma anche su primati²³⁴, come l'esposizione in utero a particolato ultrafine/metalli pesanti apra la strada a varie patologie neurodegenerative²³⁵ e in particolare alla **Malattia di Alzheimer**, utilizzata come patologia-sentinella in ragione del preoccupante incremento epidemico degli ultimi decenni²³⁶ e dell'ormai acclarato meccanismo patogenetico: tanto i suddetti studi sperimentali su cavie e primati, quanto gli studi epidemiologici dei pediatri ed epidemiologici messicani hanno infatti portato importanti contributi alla nostra conoscenza dei complessi meccanismi patogenetici che sono all'origine di questa e di altre patologie neurodegenerative (Morbo di Parkinson, Sclerosi Laterale Amiotrofica) in cui lo stress ossidativo cronico, con ogni probabilità connesso alla esposizione prolungata a inquinanti ambientali (ancora una volta: particolato ultrafine/*metalli pesanti*) svolge un ruolo di primo piano²³⁷.

Contributi significativi sono giunti, in questo campo anche dalle indagini sulla tossicità connessa alla inalazione del particolato ultrafine/nanoparticolato (*nanotossicologia*) e in particolare alla diretta traslocazione del particolato ultrafine attraverso il nervo olfattivo²³⁸ al cervello; alla deposizione di metalli pesanti nelle aree telencefaliche maggiormente implicate nella patogenesi dell'Alzheimer (lobo frontale, ippocampo); alla successiva attivazione, da parte dei depositi di particolato ultrafine/metalli pesanti, dei meccanismi pro-flogistici connessi alla liberazione locale di ROS (radicali dell'ossigeno)²³⁹ e (per catalisi diretta) del clivaggio enzimatico della b-amiloide e del *folding* proteico, per interferenza con le proteine dello *stress* (HSPs) e attivazione delle *pathways* biochimiche correlate: SAPK-chinasi etc.²⁴⁰.

Sempre più numerosi sono, infine, gli studi che dimostrano come l'esposizione cronica ai comuni livelli di inquinamento atmosferico e di particolato fine/ultrafine abbia effetti particolarmente gravi sul **bambino**²⁴¹ e interferisca negativamente con lo **sviluppo del suo apparato respiratorio**²⁴². E anche in questo senso è importante ribadire come le attuali modalità di valutazione dell'impatto ambientale e sanitario di fonti di inquinamento, sempre più numerose e diffuse sul territorio, siano insufficienti, a fronte di una condizione di esposizione cronica e progressiva che **concerne la quasi totalità dei bambini** di un pianeta nel quale anche l'inquinamento si sta globalizzando.

Problematica di enorme rilievo e attualità, che tratteremo nei prossimi capitoli.

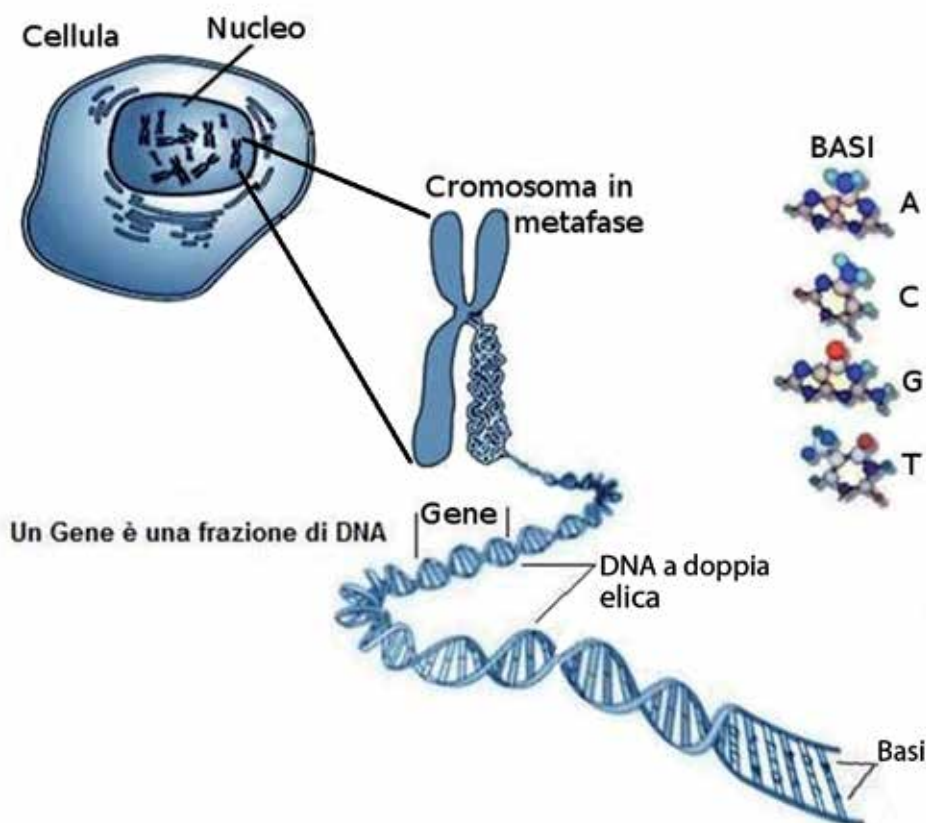
COSA DOVREMMO INTENDERE PER EPIGENOMA

Nel cuore delle cellule, il **DNA** è circondato da una vera e propria **nube di molecole** (enzimi e altre proteine, piccoli RNA...) che devono leggere e trascrivere il suo **messaggio**, e che lo **difendono e riparano**.

Questo è l'**epigenoma**, che alcuni ricercatori hanno definito il *software* del DNA.

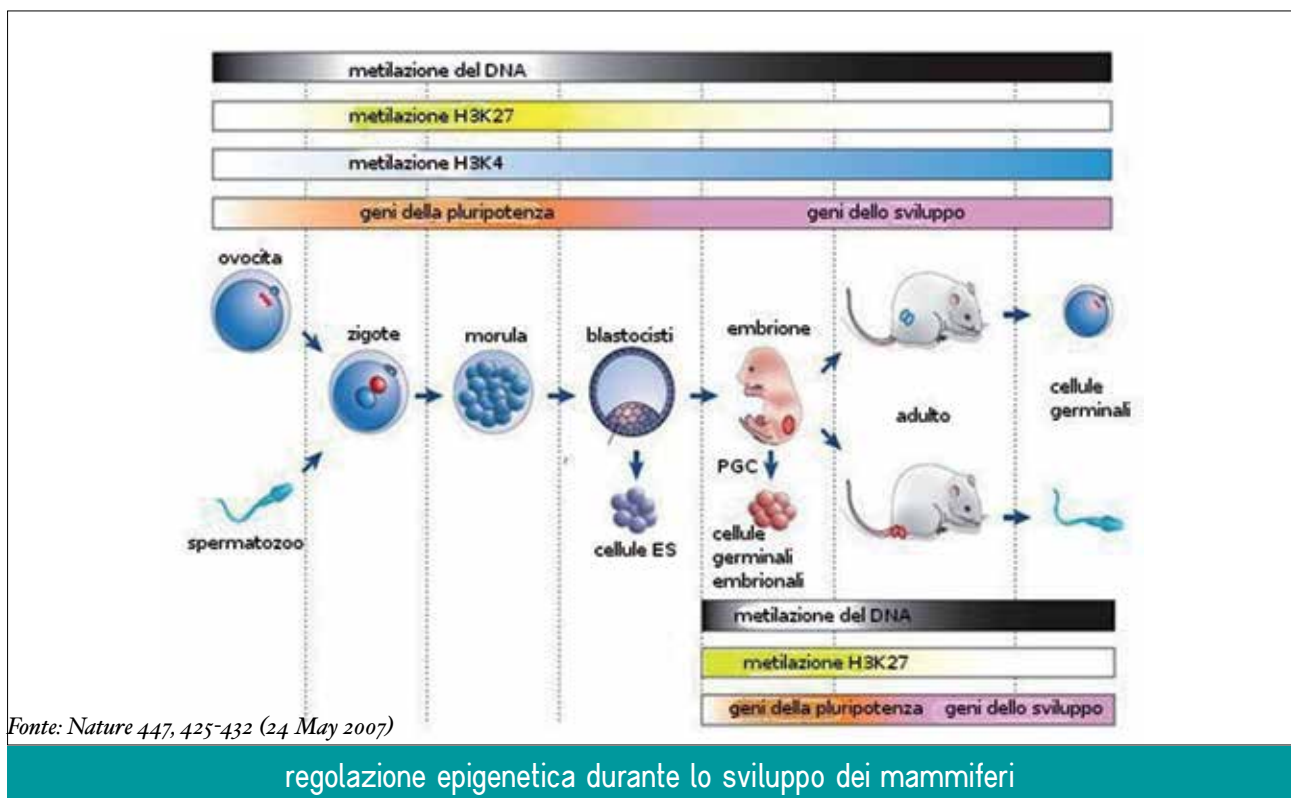
Mentre il **DNA** (l'*hardware*), che contiene il **programma-base** (tipico della specie) è una molecola stabile che si conserva tale e quale nei secoli, con minime modifiche della sequenza, l'**epigenoma** (il *software*) cambia continuamente in risposta alle sollecitazioni provenienti dall'**ambiente**. È in questo modo che le cellule **si differenziano** e che il fenotipo si (trans)forma.

Meno una cellula è **differenziata**, maggiore è **la plasticità dell'epigenoma**.



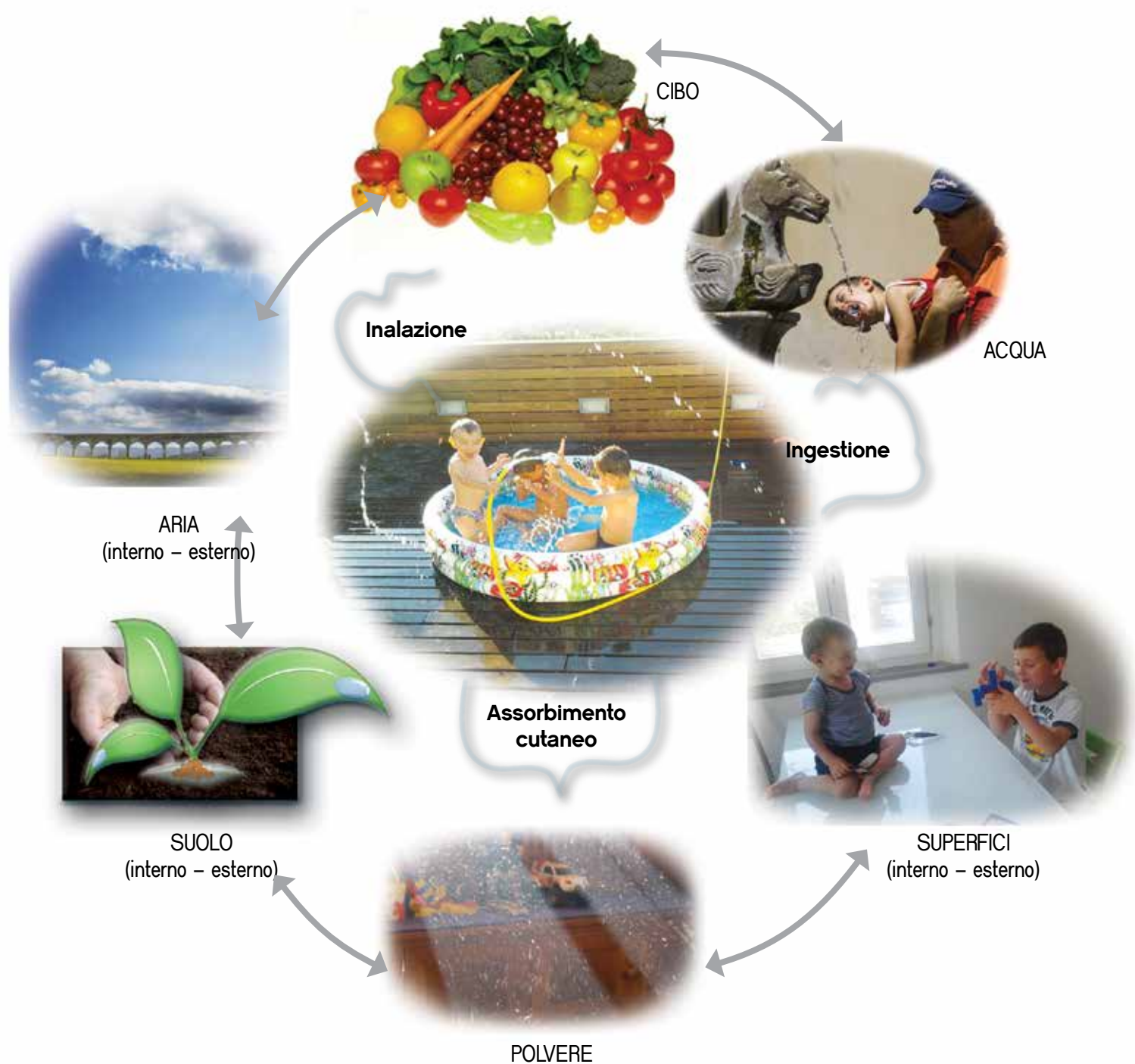
IL PROCESSO DI SVILUPPO EMBRIO FETALE (ONTOGENESI) È UN PROCESSO EPIGENETICO (DI DIFFERENZIAZIONE CELLULARE)

- È in questo modo che si attua, tra l'altro, l'intero processo di sviluppo che da una singola cellula (lo **zigote**) porta a un organismo, composto da migliaia di miliardi di cellule;
- Tutte identiche sul piano genetico ma ognuna dotata di un **diverso epigenoma** e differenti sul piano **morfo-funzionale** (cellule del sangue, nervose, epiteliali etc);
- È durante questo **processo delicato e complesso** che qualsiasi interferenza da parte di **agenti esogeni "epigenotossici"** (*metalli pesanti, interferenti endocrini* etc.) può alterare (talora in modo grave e irreversibile) la **programmazione di organi e tessuti** (*fetal programming*).



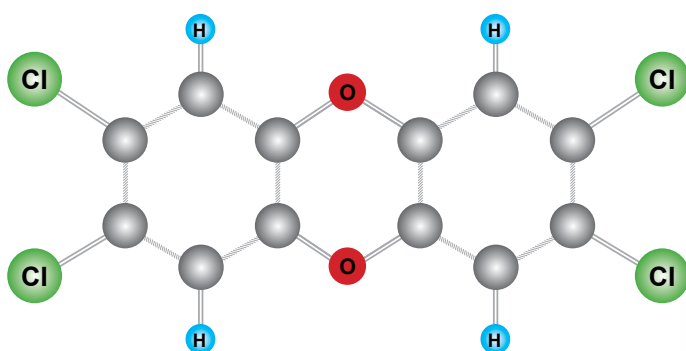
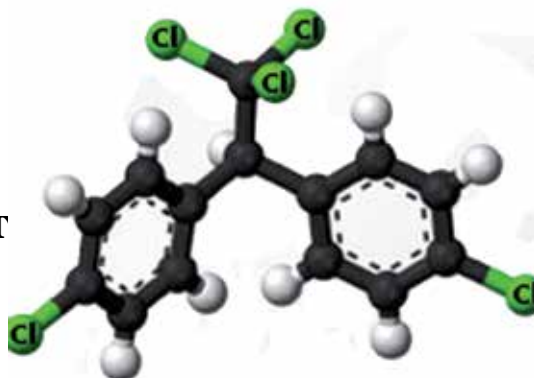
BAMBINO E AMBIENTE

I bambini vivono
in un ambiente
complesso e variabile



XENOBIOTICI

- Gli *xenobiotici* sono molecole di origine sintetica, presenti nell'organismo ma estranee all'organismo stesso, in quanto non prodotte da quest'ultimo.
- Il termine xenobiotici è utilizzato per designare molecole tossiche di sintesi o di scarto quali pesticidi, policlorobifenili e diossine..
- Si tratta di molecole fundamentalmente estranee alla Natura, perchè sintetizzate dall'uomo o accidentalmente prodotte da processi termochimici ecc.
- Molti xenobiotici sono particolarmente persistenti proprio perchè difficilmente metabolizzati dagli organismi e tossici anche a dosi infinitesime (per la stessa ragione e per la loro capacità di interferire a vario livello sulla comunicazione intercellulare, sulla biochimica delle cellule, sull'espressione del DNA)
- L'esposizione cronica a dosi minime di xenobiotici può interferisce con lo sviluppo e il funzionamento del nostro roganismo, anche senza produrre segni e sintomi immediatamente evidenti
- Per queste ragioni i più tossici tra gli xenobiotici sono stati anche designati POPs: Persistent Organic Pollutants (Inquinanti Organici Peristenti)
- La Convenzione di Stoccolma (2001) si è posta come obiettivo fondamentale quello di eliminare questi inquinanti

**Diossina di Seveso****DDT**

INQUINAMENTO GLOBALE

- Quando si parla di **inquinamento** si tende a pensare a **luoghi e situazioni** nelle quali la concentrazione di sostanze inquinanti è particolarmente alta.
- Da alcuni decenni a questa parte la situazione è cambiata: l'inquinamento è ormai un problema che **concerne tutti** e in particolare i bambini nelle prime fasi della vita.
- L'esposizione avviene attraverso l'aria inalata, l'acqua e il cibo (le **catene alimentari** sono inquinate da pesticidi e altri agenti chimici) e tramite il passaggio di molecole chimiche di sintesi e di altri inquinanti dalla madre al feto attraverso la **placenta** (praticamente in **tutti gli studi** eseguiti finora nel mondo sono state trovate **nel sangue cordonale centinaia di molecole cancerogene** e in grado di **danneggiare il DNA o di interferire con la sua espressione**).



Sostanze chimiche, agenti inquinanti e pesticidi presenti nel cordone ombelicale, inducono gravi danni alla salute del nascituro

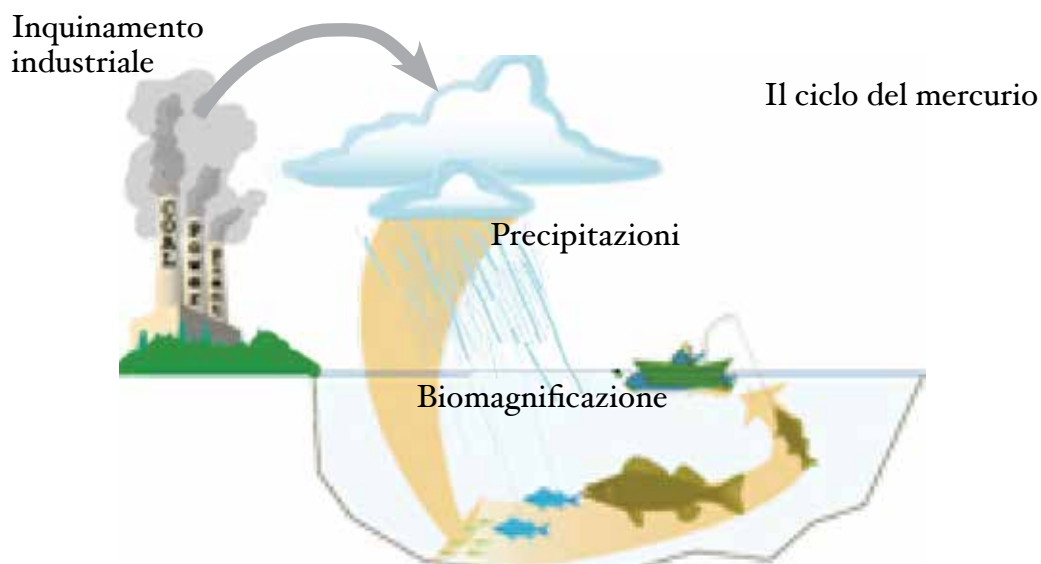
Il termine inquinamento nel XXI secolo non andrebbe riferito tanto/soltanto a singole aree del pianeta caratterizzate da un'alta concentrazione di sostanze o agenti inquinanti, ma alla rapidamente progressiva trasformazione della composizione molecolare dell'ecosfera (atmosfera, idrosfera, litosfera e soprattutto biosfera) e alla altrettanto rapida produzione e diffusione di particolato ultrafine, metalli pesanti e radiazioni ionizzanti e non ionizzanti (campi elettromagnetici).

Tale inquinamento non concerne (sol)tanto gli *"esposti"* per motivi essenzialmente occupazionali... ma tutti noi e soprattutto gli *organismi in via di sviluppo* (embrioni, feti, bambini, "generazioni future").

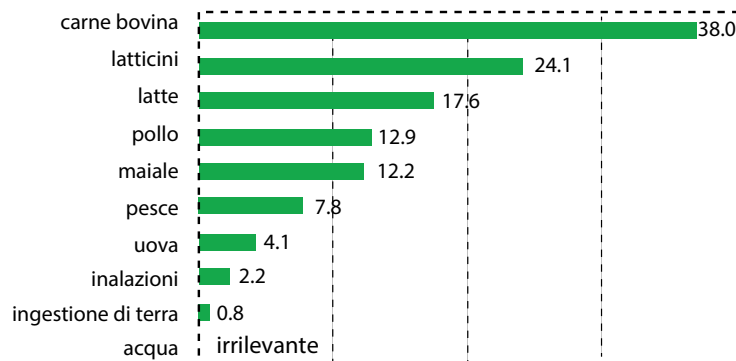
Gli effetti principali non sono le malattie professionali, ma patologie complesse e sistemiche che sono il prodotto di un'esposizione collettiva e precoce a un *cocktail* complesso di agenti chimici, fisici, biologici che interferiscono (spesso in modo sinergico) sulla programmazione epigenetica di organi e tessuti.

BIOACCUMULO e BIOMAGNIFICAZIONE

- **Metalli pesanti, diossine** e altri agenti cancerogeni immessi in ecosfera e così veicolati all'interno degli organismi viventi, si **bio-accumulano** nei tessuti (osseo e adiposo) e si **bio-magnificano** nelle **catene alimentari**.
- Dai tessuti in cui si sono **accumulati** (a volte per decenni) il loro rilascio è generalmente lento e continuo.



Da dove assumiamo le diossine (esposizione totale=119 pg al giorno)



Assunzioni giornaliere misurate in TEQ (Toxic Equivalents) nell'area del Nord America

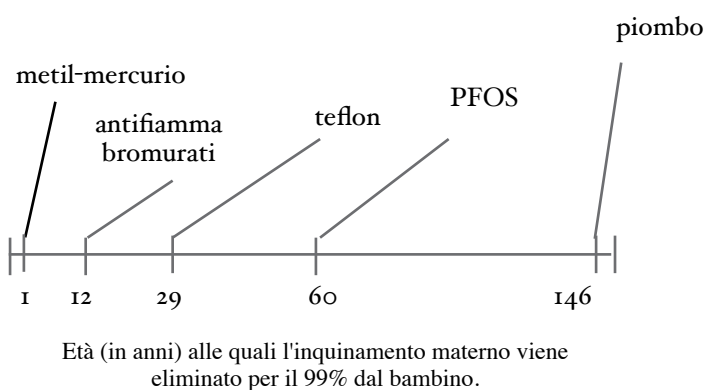
Chart from EPA Dioxin Reassessment Summary 4/94 - Vol. 1, p. 37

CARICO CHIMICO GLOBALE

- Con il termine **Carico Chimico Globale** (*Global Chemical Burden*) ci si riferisce al **bioaccumulo progressivo in tessuti e organi umani** (in particolare **materni**) di sostanze inquinanti e potenzialmente tossiche e trasmissibili alla prole
- **Nel sangue e nei tessuti** di **tutti** gli uomini e le donne che vivono in ambienti urbani e/o industriali e **persino nel sangue cordonale e placentare e nei tessuti fetali** sono presenti tali inquinanti.



Le sostanze inquinanti materne possono essere trasmesse al figlio rimanere nel suo organismo per moltissimo tempo!

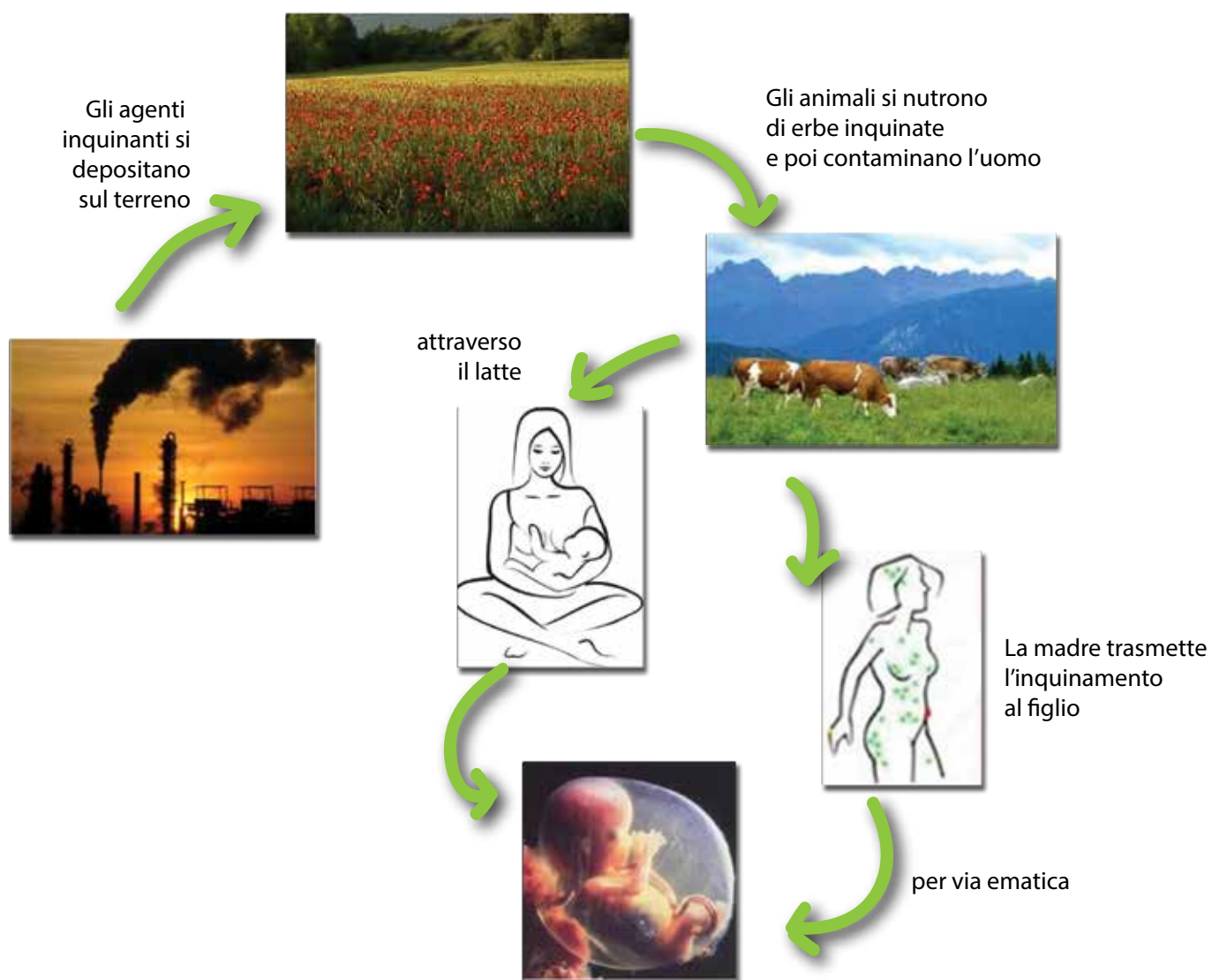


CRONOLOGIA DELLE ESPOSIZIONI UMANE

ANNI	SCENARIO DI ESPOSIZIONE
1920-1930	BPA, PCB e DDT vengono introdotti per la prima volta in commercio. L'industria dei clorinati si espande. L'esposizione prenatale e postnatale è discreta.
1940	Produzione su larga scala di plastiche e composti chimici clorurati.
1940-1950	Prima generazione con importante esposizione postnatale. Pochi casi di esposizione prenatale.
1950-1970	Prima generazione con larga esposizione prenatale.
1970-1990	Prima generazione con ampia esposizione prenatale che raggiunge l'età riproduttiva.
1990-ad oggi	Seconda generazione con ampia esposizione prenatale. La produzione e l'esposizione ad agenti inquinanti si espande notevolmente.

PASSAGGIO di INQUINANTI AL FETO e NEL LATTE MATERNO

Si è potuto dimostrare che metalli, diossine e altri inquinanti lipofili accumulatisi nei tessuti materni possono passare, anche a distanza di anni dal loro assorbimento, nel sangue e raggiungere il feto, o nel latte .



CARENZA DI FORMAZIONE SPECIFICA IN MEDICINA

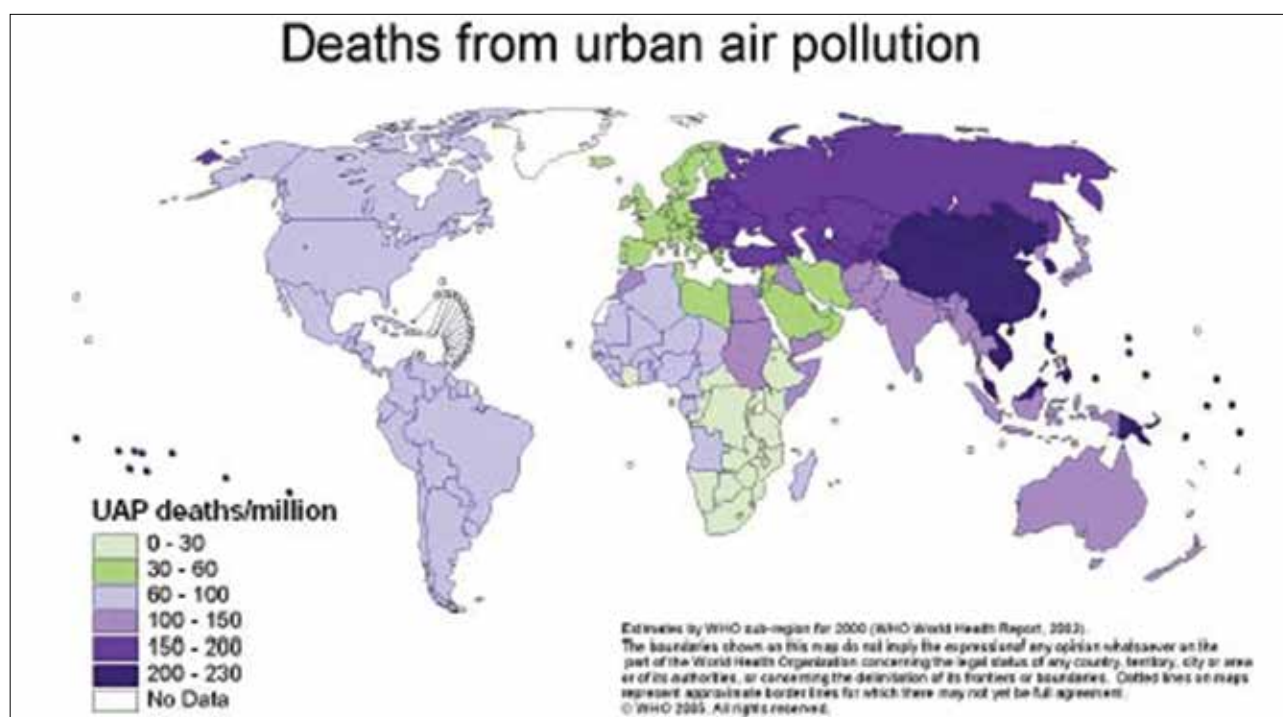
- Incredibilmente la gran parte dei medici, soprattutto in Italia, ha una conoscenza assai limitata della tematica **Ambiente-Salute**
- la **formazione del medico nel nostro paese** non prevede infatti alcuna formazione specifica intorno alle problematiche che abbiamo approfondito.



INQUINAMENTO ATMOSFERICO E DANNI PER LA SALUTE

- In genere si tende a valutare i danni diretti su soggetti adulti e si ammette in linea teorica che i bambini sono più fragili e sensibili.
- Su un piano scientifico il discorso è assai diverso: gli effetti dell'inquinamento atmosferico sugli organismi in via di sviluppo sono assai più profondi e spesso irreversibili. È dimostrato infatti che nei bambini che risiedono in aree altamente inquinate (centri urbani delle grandi città) lo sviluppo anatomico-funzionale dell'apparato respiratorio risulta compromesso.
- I danni maggiori concernono embrione e feto: è stato dimostrato che particolato ultrafine, metalli pesanti, interferenti endocrini passano il filtro placentare e raggiungono i tessuti in via di sviluppo e le cellule in via di differenziazione, caratterizzate da un genoma particolarmente plastico.
- Le conseguenze, anche gravi, possono manifestarsi dopo anni o decenni e persino nelle generazioni successive a quelle esposte (il che è causa di ulteriore sottovalutazione del problema).
- Questi dati ci aiutano a capire come mai non solo la OMS, ma la stessa Comunità Europea impongano livelli di PM sempre più bassi e sanzioni severe a chi non le rispetti.
- Come si evince dall'immagine che segue l'OMS parla di circa 3 milioni di morti premature in più ogni anno per inquinamento atmosferico: come a dire che 7 o 8 persone muoiono ogni minuto prematuramente per una causa almeno in parte evitabile. Una cifra già di per sé drammatica, che per di più rappresenta, come si può arguire da quanto sopra accennato, soltanto la punta dell'*iceberg*.

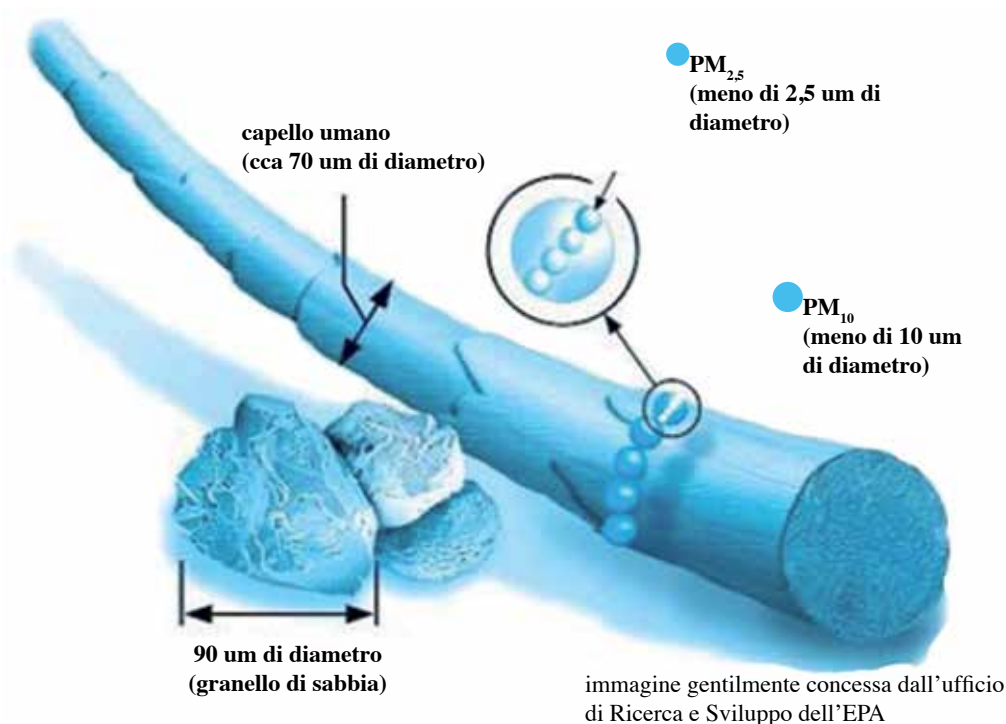
Morti derivanti dall'inquinamento atmosferico, registrate nel 2000. I dati sono tratti da un World Health report. Il report stima che l'inquinamento atmosferico sia responsabile della morte prematura di 3 milioni di persone ogni anno.



I dati sono tratti da World Health Report (WHO)

IL VERO PROBLEMA: IL PARTICOLATO ULTRAFINE (UP)

- Le particelle ancora più piccole rispetto al PM_{10} e in particolare il particolato ultrafine e le cosiddette nanoparticelle (che hanno un diametro 100 volte inferiore: 0,1 μ m) sono infinitamente più pericolose.
- Essenzialmente perché attraversano tutte le barriere biologiche (placenta, barriera ematoencefalica, membrane cellulare e nucleare..) che la Natura ha messo in campo in milioni di anni per difendere le cellule e il DNA da possibili interferenze esterne.



È infatti ormai noto che il $PM_{2,5-10}$ è in larga parte trattenuto dal muco, degradato dagli enzimi, eliminato dal movimento delle microscopiche ciglia che tappezzano i bronchi e non arriva agli alveoli dove avvengono gli scambi gassosi.

Mentre le nano particelle oltrepassano facilmente le suddette barriere, vanno a tappezzare le pareti degli alveoli, penetrano all'interno delle cellule, passano in circolo, attraversano la barriera ematoencefalica e la placenta..

In breve: "sfiorano" i polmoni e determinano danni sistemici, d'organo e persino transgenerazionali.

Gli affetti avversi delle nanoparticelle sono dunque dovuti

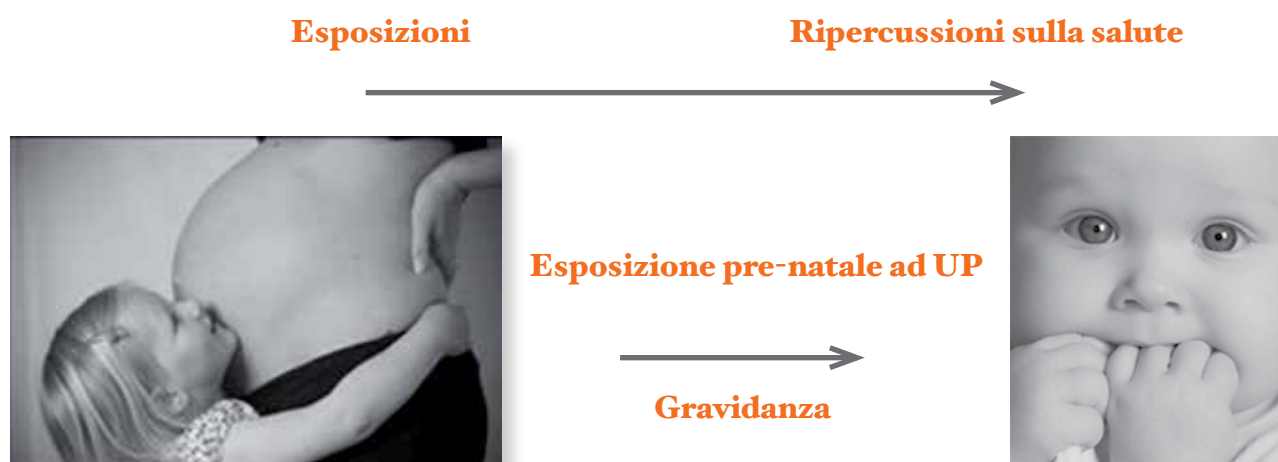
1. allo stress ossidativo (anche sistemico) indotto.
2. alle alterazioni dei globuli bianchi (linfociti e macrofagi).
3. alla loro capacità di penetrare in tutti i tessuti e nelle cellule interferendo con l'espressione del DNA,
4. al loro ruolo di navette di sostanze tossiche.

Ancor più che sull'apparato respiratorio le nanoparticelle agiscono sul sistema cardiovascolare con vari meccanismi, tra cui l'attivazione di processi trombotici, aritmie, vasocostrizione arteriosa e una risposta infiammatoria sistemica (edotelite) e apre la strada all'aterosclerosi (che è processo infiammatorio sistemico, prima che patologia da accumulo distrettuale di grassi..).

Le nanoparticelle attraversano infine la barriera ematocerebrale e penetrano nel sistema nervoso centrale, attraversano il nervo olfattivo e raggiungono con facilità il lobo frontale e l'ippocampo. Essendo queste le aree cerebrali maggiormente interessate dalla malattia di Alzheimer, vari gruppi di ricerca hanno studiato e dimostrato tramite studi sperimentali (su primati) ed epidemiologici (su autopsie di soggetti, anche giovani (!), particolarmente esposti) che le nanoparticelle e i metalli pesanti in esse contenute possono favorire la formazione delle placche di b-amiloide

Ma è ancora una volta l'esposizione in utero a destare le maggiori preoccupazioni.

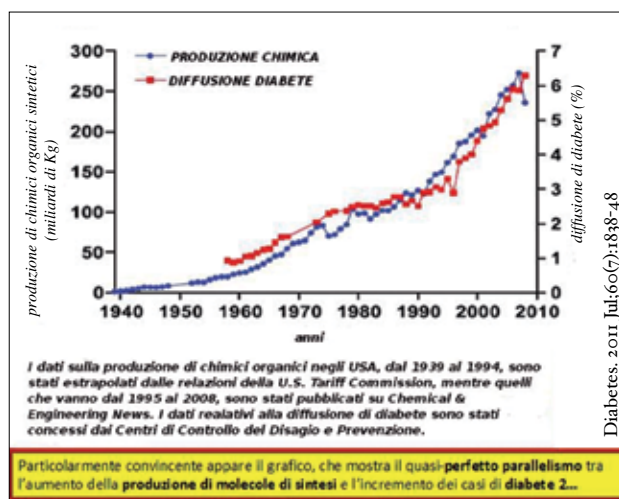
E anche in questo caso sono molti gli studi, sia sperimentali (su primati e altri mammiferi), che epidemiologici che dimostrano come le nanoparticelle con il loro carico di sostanze tossiche attraversino la placenta e interferiscano con la programmazione epi-genetica di organi e tessuti (fetal programming) aprendo la strada a numerose patologie, destinate a manifestarsi tanto nel bambino che a distanza di anni o decenni (Teoria delle origini embrio-fetali delle malattie dell'adulto)



LE SOSTANZE OBESOGENE E LA PANDEMIA DI OBESITÀ E *DIABESITÀ*

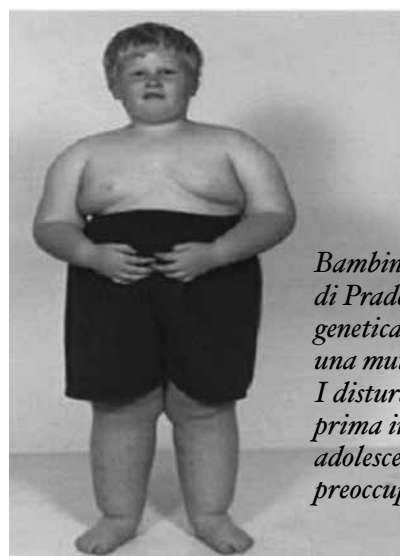
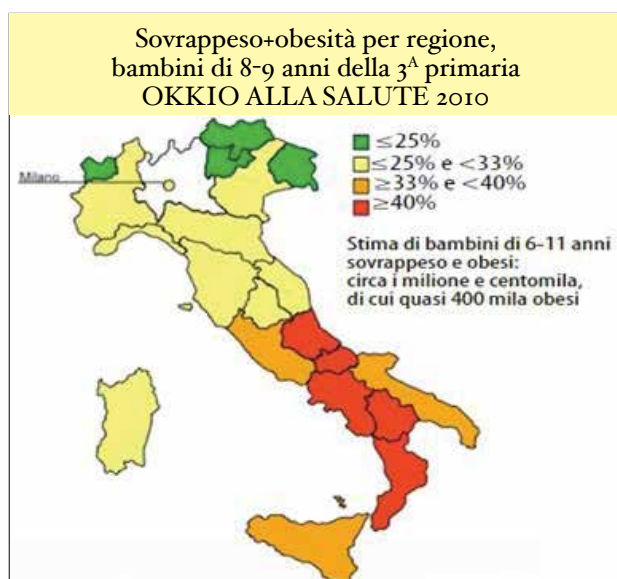


■ Fra tutte le patologie croniche in grande aumento in tutto il mondo, quelle endocrino-metaboliche destano particolare apprensione: da una decina di anni l'OMS parla apertamente di una pandemia di obesità e diabesità. Negli USA un cittadino su 3 (34%) è infatti affetto da obesità patologica e addirittura il 68% è sovrappeso e la maggior parte dei paesi sta sperimentando incrementi notevoli (anche se in genere minori di quelli americani) messi generalmente in relazione con il tasso di sviluppo e/o da alcuni autori con la produzione di sostanze chimiche “obesogene”.



Anche in Italia il fenomeno comincia ad avere proporzioni preoccupanti tra i bambini dai 6 ai 12 anni che presentavano un tasso di obesità del 7% tra il 1976 e il 1980, del 12% tra 1988 e 1994 e del 15% nel 2000. I dati più aggiornati del sistema di sorveglianza “*Okkio alla SALUTE*”, diffusi dall'Istituto Superiore di Sanità, hanno rivelato una spiccata variabilità interregionale: le regioni in cui l'incremento è più netto sono quelle meridionali.

Nota: a questo punto facciamo fatica a renderci conto che l'obesità infantile era, fino a pochi anni fa, una patologia **alquanto rara** e associata a quadri sindromici.



Bambino affetto da sindrome di Prader Willi, una malattia genetica rara, caratterizzata da una mutazione sul cromosoma 15. I disturbi si presentano dalla prima infanzia ed in età adolescenziale provocano una preoccupante obesità.

L'OBESITÀ È PATOLOGIA SISTEMICA, MULTI-FATTORIALE ed EPIGENETICA.

L'obesità è patologia sistemica e multi-fattoriale, tradizionalmente considerata il prodotto di un eccessivo apporto di cibo (diete ipercaloriche e ricche di grassi) combinato con uno stile di vita sedentario, su un background di predisposizione genetica. Ma è sempre più evidente che questi tre fattori non possono spiegare, da soli, l'allarmante incremento dei casi; la continua anticipazione dell'età di insorgenza delle patologie connesse (in particolare insulino-resistenza e diabete 2); la scarsa efficacia di strategie terapeutiche basate su alimentazione e stili di vita più corretti...

Molti studi ormai dimostrano come all'origine dell'obesità ci sia una vera e propria s-programmazione epigenetica dell'intero sistema endocrino-metabolico: ipotalamo, tessuto muscolare, tessuto adiposo (ormai universalmente riconosciuto come il principale "organo endocrino-metabolico") almeno in parte dovuta a un'esposizione precoce a *interferenti endocrini* e ad altre molecole "*obesogene*"...

La stessa rapidissima propagazione "epidemica" verificatasi in pochi decenni e i trend di costante incremento sia di obesità, che di diabete 2 sembrano provarlo.



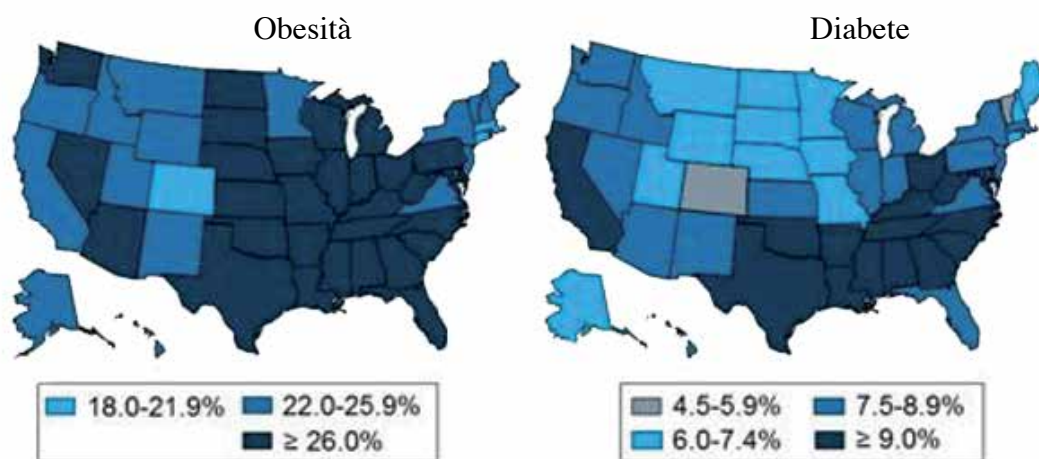
L'obesità può comparire già nel grembo materno?

LA PANDEMIA DI DIABESITA'

La conseguenza più grave della pandemia di obesità, tanto sul piano strettamente bio-medico/individuale, quanto su quello socio-sanitario/collettivo è certamente rappresentata da una seconda epidemia, direttamente e strettamente connessa alla prima: quella di insulino-resistenza (IR)-sindrome metabolica-diabete 2 che si sta diffondendo su tutto il pianeta secondo *trend* di crescita in larga misura sovrapponibili o facilmente collegabili e inducibili da quelli dell'“epidemia madre”.

Anche il diabete 2, che fino a pochi anni fa era di pertinenza dell'età adulta o addirittura senile, si sta propagando con rapidità preoccupante tra gli adolescenti di tutto il mondo.

Percentuali di statunitensi adulti obesi e con diabete nel 2009



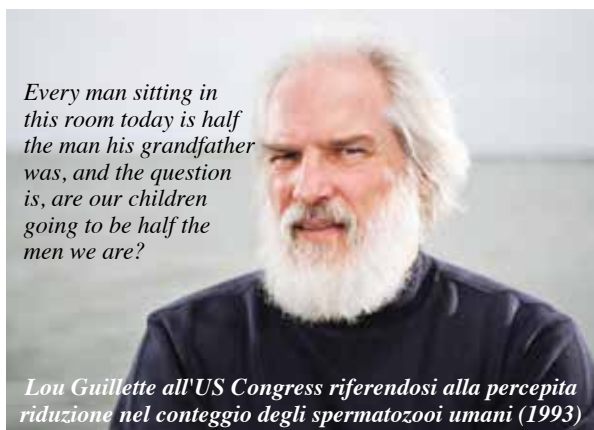
Dati pubblicati il 12/01/2012 dai Centers for Disease Control and Prevention.

Nel 2006 Grun e Blumberg formularono l'ipotesi obesogena, secondo la quale all'origine dell'epidemia di obesità e diabetologia ci sarebbe la diffusione in ambiente (soprattutto nell'ambito delle catene alimentari) di molecole *xenobiotiche* in grado di agire da *interferenti endocrini*, essenzialmente durante la fase di programmazione fetale e con vari meccanismi: promuovendo l'incremento del *pool* adipocitico (fattore chiave, visto che sembra accertato che le dimensioni del *pool* di adipociti programmate *in utero*, rimangano tali per tutta la vita); facilitando percorsi adipogenici che attivano la suddetta *iperplasia* potenziale nei periodi di maggior sviluppo fisiologico; perturbando l'omeostasi lipidica (*shiftando* il bilancio energetico verso l'accumulo di grassi); interferendo con i meccanismi di *feedback* dei circuiti dell'appetito e della sazietà...

Tutto sembra ri-collegarsi e ricomporsi nell'ambito di un unico grande quadro, secondo cui la drammatica trasformazione dell'ambiente operata dall'uomo in pochi decenni e in particolare la diffusione in ambiente e catene alimentari di molecole artificiali in grado di interferire con i meccanismi epigenetici di programmazione embrio-fetale di organi e tessuti sarebbero all'origine di una vera e propria **“rivoluzione epidemiologica”** caratterizzata da un rapido incremento e dalla manifestazione in età sempre più precoce di numerose patologie cronico-degenerative e in particolare dalla pandemia di obesità e diabete 2.

IL CASO DEL BISFENOLO A

Tra le tante molecole sospette si è molto parlato del Bisphenol A, un plastificante, contenuto persino nei biberon che può agire da interferente endocrino: numerosi studi sperimentali hanno infatti dimostrato che il bisfenolo A può interferire con la programmazione epigenetica embrio-fetale e indurre insulino-resistenza, obesità, diabete 2 e persino patologie tumorali e del neurosviluppo negli animali di laboratorio. Il 25/11/2010 l'Europa ha finalmente deciso di mettere al bando i biberon contenenti bisfenolo A.



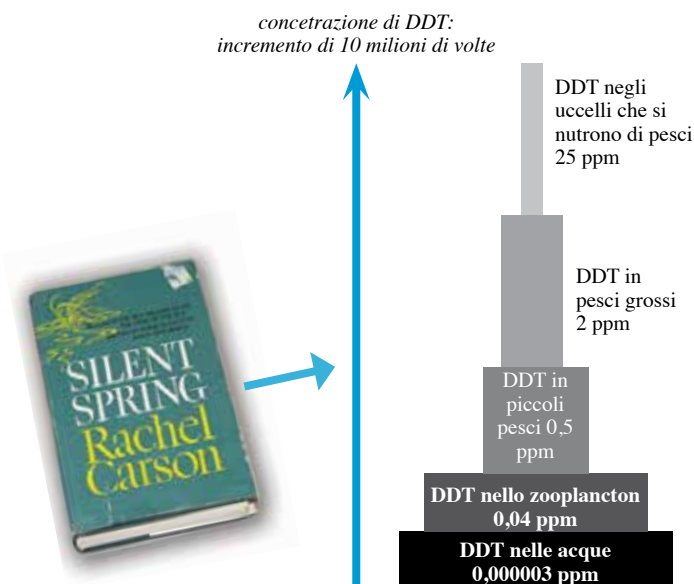
GLI INTERFERENTI ENDOCRINI

Almeno un accenno di definizione più specifica la meritano i cosiddetti interferenti endocrini (DDT pesticidi, diossine, plastificanti..).

Esattamente 50 anni orsono (1962) apparve *Silent Spring* uno dei libri più profetici (e denigrati) dei nostri giorni: vi si affrontava per la prima volta in modo sistematico il tema degli interferenti endocrini: molecole artificiali in grado di interferire con ormoni, citochine neurotrasmettitori e loro recettori, in migliaia di organismi diversi...

Oggi sappiamo che si trattava di un allarme fondato e cominciamo a conoscere i meccanismi molecolari innescati da queste «molecole mimetiche» che si bio-accumulano nei nostri tessuti e nelle catene alimentari e rischiano di sovvertire equilibri delicati e complessi che sono il portato di milioni di anni di co-evoluzione molecolare...

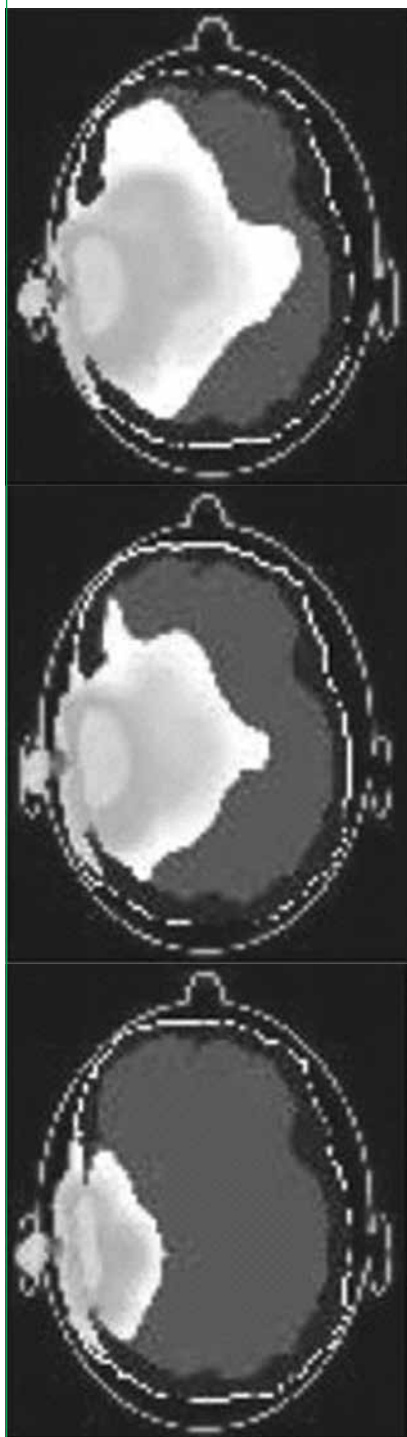
Tra quelli profeticamente già descritti in *Silent Spring* grande rilievo hanno assunto i problemi della sfera genitale e riproduttiva quali ipospadia, criptorchidismo, alterazioni quali quantitative dello sperma, pubertà precoce - tutte patologie in grande aumento, non solo nell'ambito della nostra specie - quasi certamente da imputare alla diffusione in ambiente e catene alimentari e al passaggio transplacentare di interferenti endocrini.



CAMPI ELETTROMAGNETICI (CEM) E RISCHI PER LA SALUTE

Assorbimento di radiazioni elettromagnetiche nella testa e nel collo da telefoni mobili di 835 MHz/1900 MHz (Gandhi O.P., Lazzi G., Furse C.M. 1996)

Nel bambino la parte di tessuto cerebrale esposta è molto maggiore



bambino di
5 anni tasso di
assorbimento
4,49 W/kg

bambino di
10 anni tasso di
assorbimento
3,21 W/kg

adulto tasso di
assorbimento
2,93 W/kg

Il minimo che dovremmo fare è consigliare ai genitori di limitare al massimo l'uso dei cellulari da parte dei figli.

Nel giugno del 2011 L'Agenzia Europea di Ricerca sul Cancro (IARC), sulla base di studi che hanno documentato un incremento di tumori cerebrali in soggetti esposti da oltre dieci anni a dosi consistenti (ma non inconsuete), ha inserito i cellulari e i campi elettromagnetici a radiofrequenza (wireless) nel "Gruppo 2B" che indica un possibile rischio cancerogeno sugli esseri umani.

Anche in questo caso è importante sottolineare la particolare fragilità dei bambini:

- sia per il fatto che la parte di tessuto cerebrale esposta è molto maggiore.
- sia per la maggior permeabilità della barriera emato-cerebrale.
- sia per la scarsa capacità di auto-limitare l'esposizione.
- sia per la possibile lunga-lunghissima esposizione (decenni)...

CEM: ECCO 10 MODI SEMPLICI PER RIDURRE L'ESPOSIZIONE

1. Utilizzare il vivavoce o un auricolare.
2. Tenere il telefonino lontano dal corpo.
3. Scrivere SMS è meglio che parlare.
4. Non chiamare quando il segnale è una barra o meno (un minor numero di tacche significa che lavora di più ed emette più radiazioni per ottenere il segnale dal ponte radio).
5. Attendere il collegamento al ponte radio prima di metterlo all'orecchio (i cellulari emettono più radiazioni quando provano a connettersi).
6. Tenere i bambini il più possibile lontani dai cellulari.
7. Parlare meno a lungo possibile (i rischi aumentano con la durata e frequenza dell'esposizione).
8. Riagganciare mentre guidate (anche perché il segnale è più labile).
9. Acquistare un telefonino con un SAR basso
10. Utilizzare un telefono fisso.

Quando si parla di inquinamento si tende a pensare a luoghi e situazioni particolari nelle quali la concentrazione di sostanze inquinanti è particolarmente alta. Da alcuni decenni la situazione è radicalmente cambiata: l'inquinamento è diventato un problema che concerne tutti e in particolare i bambini nelle prime fasi della vita. I rischi dell'inquinamento sono infatti tanto maggiori quanto più precoce è l'esposizione del soggetto: i bambini sono molto più sensibili degli adulti e l'embrione, il feto, il neonato e il lattante lo sono ancora di più. Eppure le comuni valutazioni epidemiologiche e tossicologiche e, di conseguenza, le principali politiche sanitarie sono basate su modelli umani e animali adulti. Per la maggior parte delle sostanze chimiche non è stata testata la tossicità specifica per il bambino, e non vengono individuate le sottopopolazioni più vulnerabili. Rischi per la salute che potrebbero derivare da esposizioni ambientali prima del concepimento e durante lo sviluppo pre- e post-natale sono spesso difficili da riconoscere e valutare a causa della lunga latenza tra gli specifici periodi di esposizione durante lo sviluppo e gli esiti che possono manifestarsi in ogni fase o momento della vita e persino nelle generazioni future. Solo di recente le maggiori agenzie internazionali e nazionali sembrano aver riconosciuto appieno il problema e l'essenza di questa sfida, proponendo un approccio *lifestage* per la valutazione dell'esposizione e del rischio.

I rischi dell'inquinamento sono tanto maggiori quanto più precoce è l'esposizione del soggetto. Le principali fonti di esposizione sono l'aria inquinata (sia *outdoor*, che *indoor*), l'acqua e il cibo (le **catene alimentari**), **ma anche e soprattutto le** molecole chimiche di sintesi e gli altri inquinanti trasmessi dalla madre all'embrione e al feto attraverso la **placenta** (visto che, come detto, praticamente in tutti gli studi eseguiti finora sono state trovate nel sangue cordonale centinaia di molecole potenzialmente mutagene e cancerogene, in grado cioè di danneggiare il DNA o di interferire con la sua espressione).

Che i bambini siano particolarmente esposti e sensibili all'inquinamento ambientale è un dato di fatto noto e riconosciuto da decenni²⁴³. Tra i principali fattori che concorrono a determinare questa particolare vulnerabilità, possiamo ancora una volta ricordare: le cosiddette *finestre di suscettibilità*; le specifiche immaturità anatomo-funzionali; l'immaturità metabolica e quella immunologica; i fattori di maggiore esposizione; la lunga durata dell'esposizione; i possibili effetti trans-generazionali; le esposizioni multiple (cumulative e sinergiche)²⁴⁴.

● Le finestre di suscettibilità

L'intero periodo dello sviluppo è caratterizzato da una particolare vulnerabilità agli stimoli nocivi. Ma soprattutto esistono fasi e **periodi di specifica vulnerabilità d'organo o di tessuto**, coincidenti con i momenti cruciali del loro sviluppo. In questi periodi l'esposizione a xenobiotici e, più in generale, ad agenti nocivi e a situazioni di *stress* materno-fetale, può produrre effetti e lesioni estremamente specifici, che non si verificano in altre età²⁴⁵.

Durante il **periodo embrio-fetale** il processo di sviluppo è particolarmente rapido. I miliardi di cellule che compongono l'organismo sono in fase di attiva proliferazione, differenziazione, migrazione, e **le varie fasi di**

commitment e differenziazione sono fisiologicamente caratterizzate da veri e propri “salti quantici”, da un pattern (epi)genetico a un altro. Gli agenti tossici che agiscono in questo periodo hanno non solo e non tanto maggiori possibilità di provocare mutazioni (che possono causare anomalie congenite e aprire la strada al cancro), ma anche e soprattutto epi-mutazioni: **marcature epigenetiche reattivo-adattative alle informazioni provenienti dall’ambiente attraverso la madre e programmatiche (fetal programming).**

Particolarmente importante è il dato di fatto che, **mentre il periodo di organogenesi concerne per tutti gli altri organi e tessuti uno specifico lasso di tempo (geneticamente programmato da milioni di anni: è questa *sensu stricto* la finestra di esposizione tessuto e/o organo-specifica), lo sviluppo del sistema nervoso centrale dura praticamente per tutto il periodo dello sviluppo pre- e post-natale e, in un certo senso, per tutta la vita**²⁴⁶. Bisogna, d’altro canto, sottolineare come la gran parte dei neuroscienziati concordino sul fatto che, al momento della nascita, la quasi totalità dei nostri neuroni si trovi già “al suo posto” (e si tratta di circa 100 miliardi di cellule!).

Lo sviluppo del SNC procede a un ritmo vertiginoso. Il grande neuroscienziato Steve Rose sottolinea che, se la formazione dei neuroni procedesse in modo costante nel corso dell’ontogenesi (in realtà procede, per così dire per “ondate migratorie” di strabiliante precisione, ma questo non cambia la sostanza del discorso) **si dovrebbero formare circa 250mila neuroni al minuto e 30mila sinapsi al secondo per cmq di superficie corticale.**

Inoltre è vero che il cervello rimane uno degli organi più plastici, che in particolare la *sinaptogenesi* continua per tutta la vita e che la formazione/trasformazione dei circuiti neuronali ha un ruolo fondamentale nella formazione del pensiero, dei ricordi etc. Ma è altrettanto vero che anche in questo senso **i primi due anni di vita** sono i più importanti. E che i maggiori disturbi del neuro-sviluppo (in particolare i cosiddetti **disturbi dello spettro dell’autismo**) sembrerebbero essere, come vedremo, essenzialmente la conseguenza di turbe della *sinaptogenesi*.

Bisogna anche sottolineare che, nonostante siano state recentemente individuate specifiche aree cerebrali che ospitano cellule staminali neurali in grado di garantire la generazione di nuovi neuroni per tutta la vita, in evidente contrasto con le concezioni tradizionali, secondo cui la neuro-genesi sarebbe terminata alla nascita²⁴⁷, è anche vero che il SNC ha capacità limitate di riparare i danni strutturali e che **agenti neurotossici, come piombo e mercurio, possono causare danni cellulari, strutturali e funzionali permanenti e irreversibili**²⁴⁸. È anche utile ricordare che tanto la massa, che la perfusione del cervello sono nei bambini notevolmente maggiori che nell’adulto (il cervello del neonato è 1/3 di quello adulto, mentre il peso corporeo è solo il 4% in media). Torneremo a riflettere, nei prossimi due capitoli, sulle conseguenze che i principali inquinanti possono produrre proprio sullo sviluppo cerebrale. I dati che abbiamo qui esposto ci servono essenzialmente a introdurre quella che è, in questo ambito, la nozione chiave: che non basta rimarcare che i bambini sono assai più fragili e sensibili degli adulti all’inquinamento.

Non basta sottolineare che i regolamenti e le normative internazionali non sono in grado di tutelare la salute dei bambini (una carenza, del resto, ripetutamente segnalata da importanti documenti ufficiali come il *Pesticides in the diets of infants and children* (1993) del National Research Council US, o come il *Food Quality Protection Act* (1996), che ha proposto l’utilizzo di fattori di protezione aggiuntivi per i bambini e segnalato la carenza di studi concernenti i possibili meccanismi di danno)²⁴⁹. Non basta ricordare che gli studi epidemiologici e, soprattutto, tossicologici dovrebbe essere disegnati in modo del tutto diverso, per poter tenere nel debito conto le modalità del tutto differenti di esposizione, di difesa, di reazione.

Non basta perché, su un piano prettamente scientifico, il discorso dovrebbe essere impostato in modo radicalmente diverso, a partire dalla consapevolezza che **gli effetti dell’inquinamento sugli organismi in via di sviluppo sono radicalmente diversi, assai più profondi e spesso irreversibili**²⁵⁰. Anche solo per il fatto che,

come abbiamo già visto e come meglio vedremo, **nei bambini che risiedono in aree caratterizzate da alti tassi di inquinamento, lo sviluppo dell'apparato respiratorio, del sistema nervoso centrale e della stessa immunità adattativa possono risultare seriamente compromessi.**

Solo di recente le maggiori agenzie internazionali e nazionali sembrano aver riconosciuto l'essenza di questa sfida, proponendo un approccio *lifestage* per la valutazione dell'esposizione e del rischio: il rapporto EPA 2006, *Quadro di valutazione dei rischi da esposizioni ambientali per la salute dei Bambini* ²⁵¹ sottolinea, ad esempio, la necessità di studiare le possibili vie e modalità di esposizione ad agenti ambientali durante tutte le fasi dello sviluppo, e di valutare i possibili meccanismi ed effetti dannosi che ne possono derivare.

Gli effetti più gravi sono sempre e comunque conseguenti all'esposizione embrio-fetale: è stato infatti dimostrato che particolato ultrafine, metalli pesanti, benzene e idrocarburi aromatici, interferenti endocrini inalati, assunti dalla madre col cibo (o anche liberati dai tessuti materni dove si erano accumulati per decenni)²⁵² passano il filtro placentare e raggiungono i tessuti in via di sviluppo e le cellule in via di differenziazione, caratterizzate, come sappiamo, da un genoma particolarmente plastico. E ormai sappiamo come **le conseguenze di una tale esposizione precoce e collettiva possano essere gravi, manifestarsi dopo anni o decenni e persino nelle generazioni successive a quelle esposte (il che è, inevitabilmente, causa di ulteriore sottovalutazione del problema, da parte di epidemiologi e tossicologi).**

Ma anche per quanto concerne il bambino, in particolare nel corso della primissima infanzia, il problema della relativa immaturità strutturale e soprattutto funzionale si pone. Ancora una volta non ci è possibile, in questa sede, entrare in eccessivi dettagli, ma è importante ricordare che **il processo di mielinizzazione continua fino all'adolescenza; che la barriera emato-encefalica è ancora immatura al momento della nascita**, al pari dei sistemi immunitario, endocrino, gastrointestinale e riproduttivo; che **il polmone e l'apparato respiratorio si sviluppano considerevolmente nei primi mesi dopo la nascita** (la superficie alveolare si accresce fino all'adolescenza, aumentando di circa 9 volte il numero degli alveoli); che **tutte le funzioni metaboliche e detossificanti (epatica, renale etc.) sono ancora carenti** (ad esempio il livello medio del citocromo P450 epatico a 1 anno è ancora 30-50% del valore dell'adulto)²⁵³, mentre la **glicurono-coniugazione** è significativamente più bassa nel neonato e le attività enzimatiche di **ossidazione-idrossilazione-riduzione** raggiungono i valori propri dell'adulto solo a circa 6 mesi. La velocità di filtrazione glomerulare infine è ridotta (anche in questo caso lo sviluppo completo si avrà intorno al 6° mese di vita) e i tubuli contorti prossimali sono immaturi (lo sviluppo completo si ha intorno alla 30ma settimana di vita postnatale).

Neonati e bambini hanno una maggiore superficie corporea rispetto all'adulto. Il neonato a termine ha una barriera cutanea adeguata, ma caratterizzata da un livello maggiore di idratazione e da un maggior assorbimento di sostanze idrofile. Il neonato pretermine, invece, presenta una barriera epidermica scarsamente sviluppata e un maggiore assorbimento di sostanze chimiche.

La distribuzione delle sostanze chimiche è molto diversa tra bambino e adulto, per la differente composizione in acqua e tessuto adiposo. Il bambino si caratterizza, infatti, per un contenuto idrico assai più elevato (circa 80% del peso nei neonati, 63% a due anni, 55% a 12 anni...) e per una percentuale di tessuto adiposo variabile nel tempo (18% del peso nei neonati, 30% a 1 anno, 17% a 15 anni, 30-35% negli adulti) e diverso per composizione (il contenuto di lipidi rappresenta il 35% nel neonato, oltre il 70% nell'adulto).

Questa diversa composizione incide sull'assorbimento e la distribuzione corporea delle sostanze idrofile e lipofile (molti inquinanti persistenti sono lipofili: tendono cioè ad accumularsi nel tessuto adiposo). I neonati hanno inoltre una bassa concentrazione di albumina, e quindi una ridotta capacità di *ligare* sostanze tossiche (inoltre l'albumina fetale ha minor attività ligante: la piena funzionalità è raggiunta alla fine del primo anno).

I bambini sono più esposti agli inquinanti anche perché, in proporzione, introducono assai più aria (bisogne-

rebbe moltiplicare per un fattore 2 - 3)²⁵⁴, acqua (moltiplicare per un fattore 4 - 5, ma fino a 7 nei primi 6 mesi), cibi (moltiplicare per 3 - 6 volte)²⁵⁵.

I bambini dei paesi più “sviluppati” hanno abitudini e “stili di vita”, in particolare modalità di movimento e di gioco, che li espongono maggiormente ad alcuni inquinanti: passano infatti molto del loro tempo in luoghi chiusi, carponi o sdraiati per terra (maggior esposizione a inquinanti indoor come il radon²⁵⁶, la formaldeide²⁵⁷, insetticidi e prodotti chimici casalinghi etc.) e mettono in bocca tutto (giocattoli, plastiche.. e quindi plastificanti, vernici e coloranti..).

I bambini hanno **un’aspettativa di vita maggiore degli adulti e quindi più tempo per essere esposti ad agenti e sostanze inquinanti e per sviluppare malattie croniche** che necessitano di anni e persino di decenni per manifestarsi (patologie cronico-degenerative e neoplastiche).

È infine importante sottolineare come se **la carenza di studi concernenti la tossicità potenziale di gran parte delle sostanze chimiche, e in particolare delle oltre 100mila molecole xenobiotiche** di cui abbiamo disseminato la biosfera, è ben nota, ed è ancora maggiore e infinitamente più grave, alla luce di quanto detto fin qui, per quanto concerne il bambino.

Nel prossimo capitolo vedremo come, in un articolo giustamente famoso, comparso su *The Lancet* nel novembre del 2006, alcuni ricercatori della Harvard School of Public Health abbiamo lanciato l’allarme sui rischi di una tale situazione, ricordando, in particolare come le molecole potenzialmente neurotossiche fin qui studiate siano poche decine, a fronte delle molte migliaia sospettate di esserlo²⁵⁸. Ed è importante ricordare che due autori, un pediatra e un epidemiologo, utilizzarono per descrivere le possibili, drammatiche conseguenze della diffusione di veleni nell’aria che i nostri bambini respirano, nell’acqua che bevono e persino nel sangue cordonale che dovrebbe al contempo nutrirli e informarli, nei primi giorni della loro vita, sul mondo che li attende due parole che riecheggiano il titolo famoso di un libro, che abbiamo già citato, che esattamente mezzo secolo fa aveva sconvolto l’America: come Rachel Carson, colpita dal silenzio che regnava nei campi avvelenati dai pesticidi, che agendo da distruttori endocrini avevano decimato le popolazioni di volatili, aveva scritto di una **Primavera Silenziosa**, Grandjean e Landrigan hanno coniato, per designare il preoccupante diffondersi di patologie del neurosviluppo e in particolare di malattie dello spettro autistico che sembrerebbero dilagare nel mondo, la formula **Pandemia Silenziosa**.

CAPITOLO 10

LA “PANDEMIA SILENZIOSA”: INQUINAMENTO E MALATTIE DEL NEUROSVILUPPO E NEURODEGENERATIVE (PARTE A)

Che la diffusione in ambiente e biosfera di molecole mimetiche, pesticidi, metalli pesanti ed altri inquinanti in grado di interferire negativamente sullo sviluppo neuro-endocrino dell’embrione, del feto e del bambino rischi di produrre danni gravissimi è un dato che emerge da decine di studi scientifici. Nel novembre del 2006 un articolo pubblicato su *The Lancet* a firma di un pediatra e di un epidemiologo della *Harvard School of Public Health* ha posto con forza il problema di una possibile “*pandemia silenziosa*” di danni neuro-psichici che si starebbe diffondendo, nell’indifferenza generale, interessando il 10% dei bambini del cosiddetto I mondo. Si tratta di un problema di grande portata, che alcuni ricercatori avevano segnalato già nei primi anni ’60, ma che è divenuto drammaticamente attuale se è vero che, da un lato, numerosi studi condotti in Europa e USA hanno rilevato la presenza di centinaia di molecole chimiche di sintesi, molte delle quali estremamente neuro-tossiche (mercurio e metalli pesanti in genere, ritardanti di fiamma, pesticidi, PCBs e altri *perturbatori endocrini*) in placenta, nel sangue cordonale e nel latte materno²⁵⁹ e che, d’altro canto, è in atto in tutto il Nord del mondo un incremento drammatico di patologie del neurosviluppo (con un incremento di prevalenza da 1:1200 a 1:88 in tre decenni, per ciò che concerne le patologie dello spettro autistico), e neurodegenerative (in particolare malattia di Alzheimer e morbo di Parkinson) alla cui origine questa esposizione embrio-fetale potrebbe non essere estranea.

Le patologie del neurosviluppo e neurodegenerative rappresentano indubbiamente il capitolo più significativo, insieme alle malattie endocrino-metaboliche (*in primis* obesità e diabete 2), di quella che abbiamo definito la *Rivoluzione epidemiologica del 20°-21° secolo*. Dovremo limitarci, in questa sede, a trattare la patologia per molti versi più emblematica (paradigmatica), sia per quanto concerne i probabili meccanismi patogenetici, che per quanto concerne le manifestazioni cliniche e l’incremento drammatico registrato negli ultimi decenni, che, infine, per le specifiche basi molecolari (genetiche, epigenetiche e genomiche) che la caratterizzano: l’**autismo**.

L’**autismo** e i cosiddetti **disturbi dello spettro autistico** (ADS - Autism Spectrum Disorders) possono essere definiti come **disturbi dello sviluppo delle connessioni neuronali** e, come meglio vedremo, della sinaptogenesi e del modo in cui il cervello “processa le informazioni”.

Abbiamo visto come l’esposizione in utero e durante i primi mesi/anni di vita a vari agenti chimico-fisici possa determinare alterazioni nel processo di sviluppo di vari tessuti e organi che possono persistere per tutta la vita e portare a malattie nella vita adulta²⁶⁰. Si tratta di una problematica di dimensioni epocali, che concerne soprattutto il nostro sistema nervoso centrale e in particolare, il nostro cervello, un organo il cui sviluppo dura molto a lungo e, per ciò che concerne la formazione delle principali connessioni intercellulari (sinapsi, circuiti) che ci permettono di pensare e comunicare, per tutta la vita.

Se infatti per ogni organo o tessuto esiste una specifica “finestra” di tempo abbastanza delimitata in cui la sensibilità a fattori stressanti e/o tossici è massima, per quanto concerne il cervello la fase precoce

di “**iper-sensibilità**” si **protrae nei primi 2 anni di vita** e concerne un’ampia gamma di insulti e situazioni stressanti²⁶¹. Che un esposizione precoce a piombo, mercurio, arsenico, toluene, PCBs o IPA possa danneggiare seriamente il cervello è noto ormai da decenni e vari autori hanno ipotizzato che l’incremento drammatico delle malattie del neuro-sviluppo registrato negli ultimi anni possa avere queste origini.

Forse il più noto di questi inquinanti è il **piombo**, la cui azione neuro-lesiva anche a dosi infinitesime, la possibile, decennale persistenza nei tessuti adiposo e osseo della madre e la capacità di oltrepassare il filtro placentare e la barriera emato-cerebrale sono largamente provate²⁶². L’altro metallo pesante sicuramente e seriamente neurotossico è il **mercurio**, che similmente al piombo inibisce differenziazione neuronale, mielinizzazione e sinaptogenesi²⁶³. E una dura polemica è stata innescata, come vedremo, da alcuni studi che avevano cercato di dimostrare un nesso tra la presenza di sali di mercurio (*Thimerosal*) in alcuni vaccini e disturbi del neurosviluppo.

Vedremo come **le ipotesi concernenti il nesso tra esposizioni ambientali e continuo incremento di disordini dello spettro autistico** e, più in generale di patologie del neurosviluppo, siano molte e come spesso si cerchi di negarne l’importanza sulla base di **studi tossicologici ed epidemiologici** che non possono dare risposte definitive:

- i **primi** perché lungamente fondati sul concetto base “che è la dose a fare il veleno” hanno, in genere, come loro principale obiettivo, quello di dimostrare il rischio associato a singoli agenti inquinanti, mentre nella realtà di tutti i giorni siamo esposti a una grande quantità di fattori **inquinanti che possono esercitare, anche in quantità minime e agendo in modo sinergico, un’azione epigenotossica** (cumulabile da una generazione cellulare all’altra e, almeno in alcuni casi, da una generazione umana all’altra);
- i **secondi** perché, inizialmente concepiti per valutare gli effetti di esposizioni massicce, accidentali o occupazionali, si rivelano inadatti a valutare una situazione in cui l’esposizione a migliaia di agenti epigenotossici è diventata collettiva, quotidiana e soprattutto indiretta (attraverso le catene alimentari, transplacentare e transgenerazionale).

Quel che appare sempre più urgente e necessario è quindi, anche in questo senso, un vero e proprio **cambio di paradigma** e la tematica della **pandemia silenziosa** introduce e illustra già in modo perfetto questa esigenza. Come già detto, esattamente sei anni fa (novembre 2006) due ricercatori della Harvard School of Public Health, un pediatra, Landrigan, e un epidemiologo, Grandjean, lanciarono l’allarme dalle pagine di *Lancet*, ipotizzando un nesso diretto tra l’immissione continua in ambiente di molecole e agenti potenzialmente neurotossici e l’aumento rapidamente progressivo, in tutto il Nord del mondo, di patologie del neurosviluppo (autismo, ADHD etc.) e neurodegenerative (*in primis* malattia di Alzheimer e morbo di Parkinson)²⁶⁴.

A questo punto dovremo **interrogarci circa la realtà e verificabilità di un tale aumento “pandemico” e circa l’esistenza di ipotesi patogenetiche** che possano collegare tra loro e spiegare l’incremento drammatico di patologie che sono a carico degli stessi organi e tessuti, ma si manifestano nelle età estreme della vita. A tale scopo dovremo almeno **accennare a controversie scientifiche e polemiche che hanno dominato il campo in questi ultimi anni, prima fra tutte la problematica inerente all’aumento stesso dei disturbi dello spettro autistico** e alla possibile correlazione tra questa e l’esposizione di milioni di bambini al mercurio (in particolare a quello contenuto in alcuni vaccini) e cercare di rispondere ad alcune domande di fondo. C’è accordo in ambito epidemiologico e pediatrico sull’essenza e sulla stessa esistenza del fenomeno: si è trattato di un aumento reale e/o in che misura hanno inciso le nuove capacità e definizioni diagnostiche? E ancora: sul piano dei numeri di cosa stiamo parlando? Tra coloro che riconoscono l’esistenza di questo drammatico aumento, c’è consenso circa le cause possibili o probabili? E per quanto concerne il nesso tra patologie del neuro-sviluppo, che colpiscono nei primissimi anni di vita e neurodegenerative che colpiscono o almeno si manifestano, per la gran parte dei casi, nell’ultima parte della vita?

È evidente che si tratta di domande di portata più generale che valgono per molte altre patologie - dall'obesità infantile all'asma, dal diabete 2 adolescenziale ai tumori infantili - che secondo alcuni autori hanno registrato un drammatico incremento negli ultimi anni; mentre secondo altri se un incremento c'è stato, questo è stato minimo e/o appunto essenzialmente legato a criteri diagnostici diversi o a una migliore capacità di diagnosi e di sorveglianza epidemiologica (tesi che vedremo proposta tale e quale, in relazione all'incremento dei tumori infantili... e di cui cercheremo di dimostrare l'intrinseca debolezza).

Anche per quanto concerne le supposte cause ci troviamo di fronte a ipotesi apparentemente assai diverse: c'è chi infatti dà valore a situazioni di grave *stress* infantile, chi sottolinea l'importanza di meccanismi infiammatori, chi cerca di documentare l'esistenza di modifiche epigenetiche, sottolineando come ovviamente in questo come in ogni altro caso analogo, ivi comprese le supposte "pandemie di obesità e cancro", non avrebbe senso cercare le cause predisponenti in ambito genetico classico, visto che gli eventuali polimorfismi e/o mutazioni della sequenza del DNA esistono da sempre e non dovrebbero poter mutare in pochi decenni.

Vedremo che in questo, come negli altri casi, se **anziché limitarsi a contrapporre tra loro le moltissime ipotesi eziopatogenetiche proposte - quelle su base genetica o epigenetica; quelle da esposizione prenatale, perinatale e/o infantile ad agenti tossici e fattori inquinanti; quelle neurologiche "organiche" e "funzionali"; quelle psicologiche *sensu stricto* secondo cui l'autismo sarebbe la "semplice conseguenza" di uno *stress* materno-fetale o di genitori/caregivers incapaci di comunicare al bambino fiducia e calore - si cercasse di vedere ciò che accomuna tra loro tutte queste ipotesi e di individuare i possibili meccanismi eziopatogenetici e le alterazioni (neuronali, ormonali, genetiche, epigenetiche..) sottostanti, l'intero quadro risulterebbe più interessante e convincente.**

E vedremo, ancora una volta, che per meglio comprendere un quadro tanto complesso, dovremo mettere in campo **nuovi modelli di esposizione e di danno, che aiutino a meglio definire nei dettagli una possibile ipotesi patogenetica unitaria, in grado di collegare tra loro in modo convincente le cause e gli effetti genetici ed epigenetici dell'esposizione gametica agli inquinanti** (e dei suoi possibili effetti transgenerazionali), dello *stress* prenatale materno-fetale e delle susseguenti modifiche epigenetiche (programmatiche) su organi e tessuti fetali, del possibile **innesco (postnatale) di meccanismi reattivi di tipo infiammatorio ecc..**

UNA PRIMA DOMANDA: AUMENTO REALE?

Abbiamo detto che esiste ancora un certo dissenso circa la reale consistenza dell'incremento di patologie del neuro sviluppo e neurodegenerative e che nel primo caso le interpretazioni riduttive si fondano essenzialmente sulla tesi dei miglioramenti diagnostici, nel secondo caso si fa leva sul nesso tra aumento dell'età media e incremento delle patologie suddette (val la pena ribadire che si tratta esattamente delle stesse contro-ipotesi avanzate da chi ancora nega l'esistenza di un incremento reale di casi di cancro e di altre patologie cronico-degenerative e infiammatorie praticamente in tutte le età della vita).

Per quanto concerne l'autismo, il minimo che si possa dire è che è veramente difficile negarne l'aumento, visto che si è passati negli USA da una prevalenza di circa 1:1200 a una di 1:150 in trent'anni²⁶⁵ e da 1:150 a 1:88 negli ultimi cinque²⁶⁶, con una prevalenza molto più alta nei maschi (1 bambino su 54) rispetto alle ragazze (1 su 252); che in California è stata osservato un 600% in più di incidenza di autismo tra i bambini fino a 5 anni di età tra i nati nel periodo 1.990-2.001; se è stato calcolato che tutt'al più un terzo di questo drammatico aumento potrebbe essere spiegato da fattori come la modifica dei criteri diagnostici e un'età inferiore al momento della diagnosi²⁶⁷; se, infine, aumenti consimili si sono verificati in paesi caratterizzati da analoghe condizioni di vita e ambientali²⁶⁸. Inoltre anche l'incremento e, soprattutto, le proiezioni per i prossimi anni, altrettanto e più allarmanti, per le malattie neurodegenerative (ivi compresa la malattia di Alzheimer) che, pur manifestandosi in

tarda età, sembrano poter avere, a loro volta, un'origine precocedimostrano che si tratta di un fenomeno reale e preoccupante²⁶⁹.

INCIDENTI E INQUINAMENTO DIFFUSO

Il primo caso di incidente che causò gravi danni neurotossici su un'intera popolazione e, soprattutto, sui bambini e che ebbe risonanza mondiale fu l'incidente della **Baia di Minamata**, in Giappone, che provocò centinaia di casi di avvelenamento da mercurio. La dinamica dell'incidente fu assolutamente esemplare e avrebbe potuto e dovuto mettere in guardia il mondo. Le donne residenti nei dintorni della baia avevano infatti ingerito, durante la gravidanza, pesce inquinato dal mercurio proveniente dalle acque reflue di un impianto chimico. Questo era stato trasformato in mercurio organico (metil-mercurio e dimetil-mercurio) dai microrganismi solfato-riduttori presenti nei sedimenti marini e biomagnificato da crostacei e pesci. In tal modo il mercurio (che come elemento semplice non viene facilmente assimilato), era stato assorbito con grande facilità attraverso le membrane biologiche e, in particolare, attraverso la barriera emato-cerebrale e il risultato era stato devastante: mentre le madri erano rimaste, in genere, apparentemente indenni, centinaia di bambini erano stati lentamente "avvelenati" durante il periodo fetale ed erano stati colpiti da paralisi cerebrale e deficit mentale²⁷⁰. Ma la drammaticità dell'evento non fu un monito sufficiente, visto che gli incidenti gravi si susseguirono e che l'esposizione dei bambini a mercurio e metalli pesanti continuò di tutto il mondo.

Nel 1982 fu la volta del Reno, inquinato per larga parte del suo percorso da un fungicida fuoriuscito da uno stabilimento della Sandoz a Basilea. Nei primi anni '90 il caso più noto fu quello legato all'inquinamento industriale del pescato del **lago Michigan**, che ebbe, ancora una volta, gravissime ripercussioni sullo sviluppo neurologico dei figli di madri esposte a PCBs. Una rapida disamina della letteratura documenta l'inutile costanza con cui alcuni autori cercarono di portare all'attenzione dei colleghi e dell'*establishment* il drammatico problema²⁷¹.

Nel 1998 un incidente clamoroso, eppure ignorato dalla grande stampa internazionale, colpì il parco nazionale di Coto Doñana in Andalusia: milioni di tonnellate di fanghi contenenti metalli pesanti (piombo, rame, zinco, cadmio, arsenico, antimonio, cobalto, tallio, bismuto, mercurio) si riversarono nel fiume Guadalquivir contaminando in modo probabilmente irrimediabile la fauna e la flora fluviale, un immenso territorio agricolo e quello che è probabilmente il più importante "santuario di uccelli" d'Europa: delle probabili conseguenze a livello umano del disastro non si seppe praticamente mai nulla²⁷².

Quelli succitati sono soltanto alcuni dei casi più noti, utili a capire quali possano essere le drammatiche conseguenze di un'esposizione precoce a sostanze neuro-tossiche. Ma **l'errore più grave consisterebbe nel pensare che gli incidenti e i problemi inerenti alle aree più industrializzate e inquinate rappresentino l'essenza del problema, mentre è sempre più chiaro che l'avvelenamento dei bambini rischia di diventare un fatto sistematico e progressivo**, visto che numerosi studi, condotti in Europa e negli States, hanno rilevato la presenza di centinaia di molecole chimiche di sintesi, molte delle quali estremamente neuro-tossiche (mercurio e metalli pesanti in genere, solventi, idrocarburi policromatici (IPA), pesticidi, PCBs e altri *endocrine disruptors*) in placenta, nel sangue cordonale di centinaia della quasi totalità dei neonati (scelti a caso) e nel latte materno²⁷³. E che delle centinaia di molecole di sintesi disseminate in ecosfera e nelle catene alimentari e già dimostrate neuro-tossiche nell'adulto solo una manciata è stata studiata a fondo.

Se venti o trent'anni fa l'epidemiologia ambientale aveva come suo fine precipuo quello di studiare gli incidenti rilevanti (Minamata, Seveso, Bhopal, Sellafield ecc.) e i siti caratterizzati da un tasso rilevante di inquinamento e verteva essenzialmente sul confronto tra soggetti esposti (in genere per motivi occupazionali) e non esposti e tra popolazioni esposte e non esposte, oggi la situazione è radicalmente cambiata e l'epi-

demiologo ambientale (come del resto il tossicologo) dovrà tenere in sempre maggior conto il cambiamento: visto che **a essere esposti a un inquinamento atmosferico e delle catene alimentari sempre più pervasivo, a campi elettromagnetici di diversa frequenza praticamente ubiquitari e a subire le conseguenze di questo inquinamento globale sono essenzialmente i bambini e le generazioni a venire.**

E in effetti negli ultimi anni l'attenzione di epidemiologi, tossicologi, (epi)genetisti ha cominciato a rivolgersi con sempre maggior frequenza a questi problemi. Studi epidemiologici importanti, anche se di piccole dimensioni, hanno ad esempio documentato una **correlazione significativa tra l'esposizione a livelli diversi di inquinamento urbano di donne gravide e ritardo mentale nei loro bambini dopo 3 e 9 anni di follow up**²⁷⁴.

LE POSSIBILI CAUSE AMBIENTALI DELL'AUTISMO

Un gran numero di *stressors* e di inquinanti ambientali è stato proposto quale fattore o cofattore patogenetico dei disturbi dello spettro autistico e di molte altre malattie del neurosviluppo, neuropsichiatriche e neurodegenerative. Tra questi possiamo citare soprattutto i **metalli pesanti** con particolare riferimento a mercurio e piombo, notoriamente neurotossici, **solventi, particolato ultrafine** emesso da motori diesel, **ritardanti di fiamma, policlorobifenili (PCBs)**, dei quali abbiamo già parlato a proposito degli studi sull'inquinamento del lago Michigan, **pesticidi, ftalati, alcol, fumo passivo, farmaci** (tra cui paracetamolo e acido folico), **vaccini, stress materno fetale, malattie virali**²⁷⁵.

Non possiamo entrare nei dettagli per quanto concerne la gran parte delle teorie eziopatogenetiche e ci limiteremo, ancora una volta ad alcune brevi notazioni particolarmente interessanti. A cominciare dall'ipotesi che l'**acido folico** somministrato in gravidanza nella profilassi dei deficit del tubo neurale possa essere una causa nell'eziologia delle patologie del neurosviluppo²⁷⁶. L'ipotesi ha destato preoccupazione e suscitato un acceso dibattito: se è infatti **fuor di dubbio che la profilassi con acido folico dei disturbi del tubo neurale ha prodotto grandi risultati**²⁷⁷, è anche vero che **un dosaggio eccessivo di un "donatore di metili" proprio nel periodo in cui il feto sta definendo l'assetto epigenetico di tutti i suoi organi e tessuti potrebbe avere conseguenze imprevedibili** e aprire la strada a patologie di vario tipo: oltre all'autismo è stato infatti ipotizzato un possibile incremento di **asma** e di altre malattie allergiche²⁷⁸ e persino di **tumori**²⁷⁹ (in questo caso, però, la somministrazione di acido folico potrebbe avere sia effetti protettivi, per metilazione di oncogeni, che favorenti, per iper-metilazione di geni onco-soppressori: uno dei meccanismi chiave nelle prime fasi della cancerogenesi)²⁸⁰.

Per rimanere nel campo dei presidi terapeutici utilizzati in ambito pediatrico, un'altra teoria discussa, e fin qui non provata, concerne il **paracetamolo** (acetaminofene): l'ipotesi, basata essenzialmente su alcuni studi epidemiologici e sulla coincidenza tra l'incremento di incidenza dell'autismo e l'utilizzo di paracetamolo in sostituzione dell'aspirina, per i timori legati alla sindrome di Reye, appare quantomeno difficile da verificare. Tanto più che il dibattito sul nesso tra aspirina e sindrome di Reye è tuttora aperto ed è stato anche ipotizzato che il paracetamolo possa essere altrettanto pericoloso²⁸¹.

La più nota controversia concernente le possibili cause dell'autismo é quella scatenatasi dopo la pubblicazione di studi che ipotizzavano una diretta connessione tra l'incremento continuo di casi di malattie del neurosviluppo, utilizzo di **sali di mercurio** (*Thiomersal*) come agenti preservanti in molti vaccini²⁸² e col vaccino MMR (morbillo, rosolia, parotite), con annessa ileite reattiva²⁸³. La levata di scudi contro gli autori di queste ricerche è stata impressionante e la gran parte delle società scientifiche e professionali (*American Medical Association, American Academy of Pediatrics, American College of Medical Toxicology, Canadian Paediatric Society, U.S. National Academy of Sciences, Food and Drug Administration, Centers for Disease Control and Prevention, World Health Organization, Public Health Agency of Canada, European Medicines Agency.*) ha ufficialmente rigettato l'ipotesi. Ancor più impressionante è stata la campagna diffamatoria nei confronti di questi ricercatori

ri, alcuni dei quali hanno preferito ritrattare pubblicamente i risultati delle proprie indagini. È probabile che tali studi siano carenti e incauti. È però innegabile che il mercurio è una sostanza estremamente neurotossica e che l'esposizione accidentale o farmacologica a mercurio nelle prime fasi della vita può danneggiare seriamente il sistema nervoso centrale e va evitata²⁸⁴.

Tra le molte ipotesi patogenetiche possiamo anche ricordare quella secondo cui **talune infezioni virali**, sia da virus a DNA (*Herpes virus*) che a RNA (*retrovirus*) potrebbero giocare un ruolo significativo²⁸⁵ (ipotesi avanzata anche per altre patologie del sistema nervoso centrale, come la sclerosi multipla, ma mai del tutto confermata)²⁸⁶ e quella secondo cui **autoanticorpi materni** potrebbero danneggiare il sistema nervoso del feto²⁸⁷. Anche se non tutti concordano sul fatto che l'autismo sia più frequente tra i figli di donne affette da patologie autoimmuni²⁸⁸, la scoperta di autoanticorpi specifici per alcune proteine cerebrali tanto nella madre, che nel feto rappresenta un dato non trascurabile (anche se non implica un loro ruolo patogenetico prioritario)²⁸⁹.

Possiamo sottolineare che diversi studi hanno documentato l'esistenza di anomalie immunitarie periferiche nei bambini autistici: anomalie nei **profili citochinici** espressi dai **linfociti T helper**²⁹⁰, **linfocitopenia**²⁹¹, **risposte linfocitarie** alterate ad agenti mitogeni²⁹², livelli alterati di **Ig seriche**²⁹³, attivazione dei **natural killer**²⁹⁴, aumentata **risposta monocitaria**²⁹⁵ e alti livelli di componenti del complemento²⁹⁶.

Su *Molecular Psychology*, una delle più importanti pubblicazioni del gruppo di *Nature*, è recentemente comparso una revisione concernente 40 anni di letteratura sulle principali anomalie fisiologiche e metaboliche associate a disturbi dello spettro autistico (ASD): uno **stress ossidativo** sarebbe presente, secondo il 100% degli studi che abbiamo indagato sul tema (115 su 115), infiammazione e/o disregolazione immunitaria in circa il 95% (416 su 437), una disfunzione mitocondriale nel 95% (145 su 153), esposizioni a sostanze tossiche nell'89% (170 su 190). Un altro dato interessante è che la maggior parte delle pubblicazioni censite (552 su 895, pari al 62%), concernenti i quattro argomenti su elencati, sono stati pubblicati negli ultimi 5 anni (2006-2010)²⁹⁷.

Nel loro insieme questi dati non sono sufficienti a documentare un'**origine autoimmune** dell'autismo, ma dimostrano, ancora una volta, come le ipotesi genetica, epigenetica, tossica, infiammatoria, immunologica e, come meglio vedremo, psicologica, non dovrebbero essere contrapposte tra loro, ma riconosciute come **diversi aspetti di un unico processo sistemico, psico-neuro-endocrino-immunologico** e come, anche in questo campo, le ipotesi di Barker, igienica e infiammatoria non andrebbero considerate tra loro alternative, ma complementari.

È utile ricordare come anche **l'ipotesi igienica** sia stata puntualmente chiamata in causa, sulla base di alcune similarità epidemiologiche tra autismo e asma²⁹⁸. Ci sembra però ovvio che l'esposizione a fattori di stress e ad agenti inquinanti, prevalente nelle maggiori aree urbane, possa avere un ruolo eziopatogenetico in entrambe le patologie. E anche per quanto concerne lo **stress ossidativo** è giusto sottolineare il suo ruolo, visto che è di frequente riscontro, nei bambini autistici, una **flogosi di basso grado con iperproduzione di citochine proinfiammatorie e riduzione di citochine antinfiammatorie**²⁹⁹ (anche se i dati sembrano meno consistenti che per la **schizofrenia**)³⁰⁰.

Che il ruolo di molti inquinanti ambientali sia stato fin qui enormemente sottovalutato, lo dimostra, il caso dei **pesticidi**. Sappiamo da tempo che molte molecole utilizzate come tali, in specie in ambito agricolo, ma anche casalingo, agiscono come veri e propri neuro-veleni e che anche in altri mammiferi **l'esposizione prenatale agli antiparassitari organoclorati dieldrin e lindano altera le sinapsi**, riducendo l'espressione, la conformazione e le capacità di legame dei recettori GABAA del tronco encefalico³⁰¹. Ma soprattutto sappiamo che alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato, ancora una volta, come sia l'esposizione prenatale quella che dobbiamo temere più di ogni altra. Uno studio recente, ad esempio, ha dimostrato, utilizzando le stime di esposizione tratte da un "database storico", che i bambini nati dalle madri maggiormente esposte in gravidanza a insetticidi organoclorurati hanno **7,6 volte più probabilità di essere diagnosticati con sindromi dello spettro**

autistico rispetto ai figli di madri che hanno vissuto nel quartile più basso di esposizione³⁰² e associazioni consimili sono state osservate per insetticidi piretroidi e organofosfati.

In un altro studio prospettico di coorte è stato osservato un aumento del 230% di sintomi tipici dei disturbi pervasivi dello sviluppo per aumenti di 10-nM/L dei livelli materni prenatali di metaboliti urinari di insetticidi organofosfati³⁰³.

Nel giugno 2000, l'Agenzia americana per la Protezione dell'Ambiente (Environmental Protection Agency, EPA) ha annunciato il divieto di commercializzare, a partire dal 31 dicembre 2001, il **clorpirifos**, un insetticida organofosfato tra i più utilizzati per uso residenziale. Nell'ambito di uno **studio di coorte prospettico** iniziato nel 2003 livelli rilevabili di **clorpirifos** furono lungamente trovati praticamente in tutti campioni di aria indoor e nel 60% - 70 % di campioni di sangue raccolti da madri e neonati al momento del parto. Inoltre **i livelli ematici materni e quelli dei neonati risultarono fortemente correlati, il che indicava che il pesticida attraversa facilmente e rapidamente la placenta**³⁰⁴. Gli effetti sullo sviluppo motorio e cognitivo dell'esposizione prenatale furono poi valutati in 254 bambini, nei primi tre anni di vita, in funzione dei livelli di clorpirifos nel plasma del cordone ombelicale e i risultati furono pubblicate nel 2006 su *Pediatrics*: a tre anni di età i bambini più esposti presentavano un punteggio significativamente più basso rispetto ai meno esposti nella valutazione delle capacità mentali e motorie; nel tempo i deficit cognitivi e psicomotori aumentavano; disturbi dello spettro autistico e Sindrome da Difetto di Attenzione e Iperattività (ADHD) a tre anni erano più frequenti nei bambini con maggiore esposizione³⁰⁵. E uno studio, anch'esso recentemente pubblicato su *Pediatrics*, ha ulteriormente supportato l'ipotesi che l'esposizione a organofosfati, a livelli comuni tra i bambini americani, potrebbe aver contribuito all'attuale prevalenza di ADHD (un incremento di dieci volte della concentrazione urinaria dei metaboliti organofosforici sarebbe associato ad un aumento di rischio del 55% - 72 %)³⁰⁶.

Tra le cause ambientali in età postnatale, possiamo anche citare la cosiddetta **teoria delle sostanze oppiacee** che potrebbero prodursi dal **glutine** (*gliadorfina*) e dalla **caseina** (*caseomorfina*)³⁰⁷: le basi teoriche sono interessanti, nel senso che tali sostanze potrebbero ridurre nel bambino autistico la capacità di recepire gli stimoli sensoriali, in particolare quelli auditivi e non mancano le possibili correlazioni con alcuni sintomi propri dell'autismo. Ma anche queste sostanze sembrerebbero rappresentare un cofattore eziologico secondario. La connessione possibile con il glutine e con la **celiachia** è invece recentemente riemersa in relazione alla considerevole frequenza con cui patologie gastroenteriche e autismo si associano, almeno secondo alcuni autori. Il principale fattore chiamato in causa per spiegare tanto l'aumento della celiachia, quanto quello dei sintomi autistici associati, sarebbe un incremento della permeabilità gastroenterica, in genere connesso a una condizione infiammatoria e assorbimento di proteine esogene (*Gut Leaky Syndrome*)³⁰⁸: anche questa teoria è stata però molto criticata, anche in relazione ai già citati, contestatissimi studi che hanno messo in relazione vaccini e autismo. Un argomento forte contro entrambe le ipotesi è che i bambini affetti da autismo non mostrano, in genere, un aumento di peptidi urinari né specifici (oppioidi), né totali³⁰⁹.

Da prendere in maggior considerazione, nei prossimi anni, sono le teorie concernenti la possibilità che un'esposizione prenatale ad **agenti fisici** come **ultrasuoni e radiazioni non ionizzanti** possa avere effetti negativi sullo sviluppo cerebrale, interferendo, in particolare, con la **migrazione neuronale**, che rappresenta uno dei processi fondamentali per la corretta costruzione dell'intera struttura cerebrale.

Se la prima ipotesi, indubbiamente preoccupante, non sembra aver avuto fin qui sufficienti conferme³¹⁰, la seconda è stata recentemente confermata da uno studio, pubblicato su una delle riviste di *Nature*, che ha dimostrato come tanto la migrazione neuronale e la sinaptogenesi possano essere disturbate dalle emissioni dei telefonini mobili e indurre **alterazioni irreversibili delle sinapsi glutammatergiche**, le più importanti sinapsi eccitatorie del cervello³¹¹.

L'estrema importanza e attualità di queste due ipotesi appare evidente, vista la regolarità e frequenza con cui

embrioni e feti sono esposti a ultrasuoni e a livelli crescenti di radiazioni non ionizzanti. E, come detto, è questa seconda la modalità e forma di interferenza che reputiamo più pericolosa, anche è soprattutto perché in letteratura è già stata dimostrata la capacità delle radiazioni non ionizzanti della frequenza utilizzata in telefonia mobile, di attivare specifiche sequenze genetiche e di indurre, per esposizioni di pochi minuti, l'espressione delle proteine dello *stress*³¹².

Le **teorie di stampo e ambito psicologico e sociale**, che erano state lungamente *in auge*, hanno perso molto della loro forza, da quando da un lato la familiarità e l'alta frequenza nei gemelli monozigoti, dall'altra la miglior conoscenza delle cause genetiche hanno dimostrato che l'autismo é essenzialmente malattia genetica e quindi organica. Tra le teorie più importanti bisogna ricordare quella "dei genitori freddi", inizialmente proposta dallo stesso Leo Kanner³¹³, e la variante della "madre fredda", proposta in particolare da Bruno Bettelheim.

Ci sembra però importante sottolineare, a questo proposito, l'**assurdità della contrapposizione tra ipotesi organicistica e psicologica**, soprattutto alla luce di quanto diremo circa gli studi recenti nel campo della genomica, che hanno dimostrato come **le marcature epigenetiche in varie aree cerebrali e tessuti neuro-endocrini (asse dello stress) e persino talune alterazioni cromosomiche (telomeri fragili) e strutturali del cervello (ippocampo ipoplastico) possano essere una conseguenza di stress psicologici precoci**. Riemerge, anche in questo caso, il problema dei **modelli** e degli schematismi obsoleti che andrebbero superati: **separare ciò che è psichico da ciò che è organico significa, infatti, dimenticare che alla base di qualsiasi modificazione psichica, ci sono comunque eventi biochimici ed epigenetici e viceversa, nel senso che è sempre più evidente che gli eventi psichici possono interferire sugli assetti epigenetici e genomici**³¹⁴.

Nel prossimo capitolo vedremo come proprio le **patologie del neurosviluppo e neurodegenerative** ci aiutino a meglio comprendere tutto questo. In merito alle **basi genetiche, o meglio genomiche, dei disturbi dello spettro autistico**, possiamo comunque già rimarcare alcuni importanti dati di fatto, emersi negli ultimi anni, che dimostrano come, nella gran parte dei casi, si tratti di **patologie genomiche ed ereditabili e non ereditarie sensu stricto**³¹⁵.

L'utilizzo di tecnologie di analisi genomica ad alta risoluzione, che permettono di identificare delezioni e duplicazioni di decine, centinaia di chilobasi, ha consentito, infatti, di scoprire che le principali mutazioni genetiche associate all'autismo sono **variazioni del numero di copie (CNVs: Copy Number Variations), comparse de novo nei gameti dei genitori**: che non si trovano, cioè, nei tessuti di questi, ma possono essere trasmesse ai figli e, potenzialmente, alle generazioni future.

Questa scoperta ha permesso di comprendere vari aspetti fin qui abbastanza oscuri della genetica dei disturbi del neurosviluppo e potrebbe aiutarci a chiarire altri misteri. Ha permesso, per esempio, di meglio comprendere i dati concernenti la **familiarità dell'autismo**: il fatto cioè che nella gran parte dei casi si tratti di **casi isolati**, pur esistendo una certa familiarità, e che la concordanza è notevolmente più elevata nei **gemelli monozigoti** che in quegli dizigoti, il che può essere facilmente spiegato mediante il suddetto modello, piuttosto che per trasmissione ereditaria classica di singoli geni favorenti l'autismo (del resto mai individuati).

Molto interessante è anche la particolare natura di queste mutazioni, che nell'uomo si producono durante la **gametogenesi** (in meiosi, per ricombinazione omologa non allelica) e che, come diremo, sono note da decenni per essere, anche in organismi molto distanti sul piano filogenetico (microrganismi, insetti, mammiferi), il prodotto di **meccanismi genetici reattivo-difensivo-adattativi**.

Vedremo infine come le principali mutazioni associate all'autismo tendano a localizzarsi nei **loci** cromosomici contenenti i principali *cluster* genici caratterizzati da **imprinting** genomico. Un'associazione fin qui del tutto inesplicabile, la cui comprensione potrebbe aiutarci a meglio comprendere questo fin qui misterioso e affascinante adattamento genomico *co-evolutivo* (materno-fetale) o *competitivo* (intergenitoriale).

CAPITOLO 11

LA “PANDEMIA SILENZIOSA”: INQUINAMENTO E MALATTIE DEL NEUROSVILUPPO E NEURODEGENERATIVE (PARTE B)

Le malattie del neurosviluppo, prima fra tutte l'autismo (e più in generale i disordini dello spettro autistico, la sindrome di Asperger e i cosiddetti disturbi pervasivi dello sviluppo), le malattie neuropsichiche in generale (in particolare la schizofrenia) e le malattie neurodegenerative dell'anziano (in particolare la Malattia di Alzheimer) rappresentano l'ambito biomedico nel quale i nuovi modelli patogenetici al contempo molecolari e sistemici tesi a collegare l'esposizione precoce a vari tipi di “*stressors*” ambientali, le modifiche genetiche (epigenetiche, genomiche, cromosomiche), e gli effetti fenotipici e clinici a breve e a lungo termine sembrano poter fornire i risultati più eclatanti e rivoluzionari. In questo capitolo cercheremo di collegare tra loro ambiti di ricerca e approcci diversi come quello concernente la *pandemia silenziosa* di patologie del neurosviluppo, possibilmente connessa a una esposizione collettiva precoce ad agenti inquinanti; gli studi genomici più recenti che sembrano evidenziare modifiche epigenetiche e genetiche frequenti essenzialmente nei *loci* cromosomici che ospitano “geni imprintati” e, in particolare, modifiche genomiche di recente comparsa come le CNVs (*Copy Number Variations*) nei soggetti affetti da disturbi dello spettro autistico e da schizofrenia e nei gameti dei loro genitori. Ma cercheremo soprattutto di dimostrare, ancora una volta, come sia necessario e urgente collegare tra loro i diversi approcci, molecolare-riduzionistico, clinico (le attuali classificazioni essendo tuttora basate essenzialmente su dati clinici che, in questo ambito, risultano almeno in parte sovrapponibili), sistemico ed eco-sistemico (ecologico e sociale), per meglio vagliare e valutare l'immensa quantità di dati epidemiologici, tossicologici, molecolari e clinici che si vanno accumulando.

Il modo più semplice per definire **autismo e disturbi dello spettro autistico** consiste nel riconoscere in essi l'espressione biologica e clinica delle infinite possibili **alterazioni dello sviluppo neuronale e sinaptico**, probabilmente indotte da condizioni di **stress genetico e genomico in parte precedenti la nascita stessa del soggetto** [**mutazioni ed epimutazioni gametiche *de novo***, potenzialmente in grado di tradursi in un'amplificazione transgenerazionale del danno e **modifiche epigenetiche reattivo-adattative (acquisite nel corso dello sviluppo embrio-fetale) in specifiche aree cerebrali: ippocampo, locus caeruleus..**], *in parte* post natali (in particolare alterazioni della sinaptogenesi indotte da stress e/o da esposizione ad agenti inquinanti).

Abbiamo già più volte accennato alle **particolari modalità di programmazione e sviluppo del sistema nervoso centrale, che non concernono soltanto la fase embrio-fetale, ma anche la vita post-natale**: in particolare per quanto concerne le specifiche modalità di programmazione genetica e di realizzazione epigenetica di tali strutture e i **processi di sinaptogenesi e di costruzione dei circuiti neuronali, che sono particolarmente rilevanti nei primi anni di vita**, ma si protraggono per l'intera esistenza.

Il fatto stesso che questi disturbi (anche quelli caratterizzati da maggior gravità sul piano clinico) si manifestino in genere nel corso dei primissimi anni di vita, ma dopo un certo **periodo di latenza** (di normale sviluppo intellettuale, oltre che motorio) sembrerebbe attestare che a essere alterati non sono tanto i processi di costruzione, per così dire, dell'*hardware* cerebrale (differenziazione e migrazione neuronale, connessioni neuronali fondamentali, definizione delle aree cerebrali), quanto **del software (giunzioni sinaptiche, circuiti neuronali)**.

E già sulla base di queste considerazioni è possibile ipotizzare che **la stessa unicità del substrato anatomico-funzionale interessato e la sua plasticità evolutiva e adattativa, in relazione alle informazioni provenienti dall'ambiente, potrebbero aiutarci a mettere a punto un modello patogenetico che inquadri e definisca in modo unitario tutti i disturbi e le patologie neuropsichiche (dall'autismo, alla schizofrenia, alla depressione, alle malattie neurodegenerative *sensu stricto*).**

NEUROATONOMIA E NEUROFISIOLOGIA DELL'AUTISMO

L'autismo sembra essere un disturbo complessivo dello sviluppo cerebrale, che interessa, sul piano neurofisiologico, molte o addirittura **tutte le principali aree e sistemi funzionali del cervello**³¹⁶ e conseguente forse più a un alterato *timing* nel processo di sviluppo e, come detto, ad alterazioni del *software* neuronale e sinaptico, più che di singole strutture (come avviene in patologie più localizzate come il Parkinson)³¹⁷.

È però un dato ormai certo che alcune aree cerebrali sono in genere più coinvolte di altre: in particolare questo vale per l'**amigdala**³¹⁸ il **Locus Coeruleus** e l'**ippocampo**.

Per quanto concerne l'**amigdala**, sembra che nell'autismo sia proprio il *timing* di sviluppo di quest'area a essere alterato: si avrebbe infatti un periodo di espansione precoce (36-56 mesi di età)³¹⁹ che persiste durante la tarda infanzia, provocando ansietà e problemi di comunicazione e socializzazione³²⁰.

Per quanto concerne il **Locus Coeruleus**, alcuni studi recenti hanno destato grande interesse. Fin dal 2007 uno studio comparso su *Pediatrics*, aveva dimostrato come, paradossalmente, vari sintomi e comportamenti tipici dei bambini autistici sembrassero favorevolmente influenzati dalla febbre. Nel 2008, su *Brain Research Reviews*, comparve uno studio che ipotizzava come importante fattore patogenetico dell'autismo alcune marcature epigenetiche precoci del **Locus Coeruleus**, sottolineando come tale zona cerebrale fosse la sola inserita nei circuiti di controllo della termogenesi e del comportamento³²¹. Tutto questo deponeva per un ruolo particolare del **Locus Coeruleus**, che se "stimolato" dalla febbre, sembrava poter ripristinare la normale funzionalità di sinapsi e circuiti cerebrali inattivati nel bambino autistico, dimostrando, tra l'altro la fluidità e reversibilità di tali lesioni. Inoltre tutto questo sembrava collegarsi a un altro ambito che abbiamo visto fondamentale nella ricerca sulle cause dell'autismo e di molte altre patologie e disturbi neuropsichici: lo **stress**. Il **Locus Coeruleus** è l'area che secerne la gran parte della noradrenalina cerebrale, un neurotrasmettitore fondamentale nelle reazioni cosiddette "fight or flight/lotta o fuggi", il che depone appunto per un suo ruolo fondamentale nei circuiti di controllo delle reazioni da stress.

A questo proposito è importante ricordare come lo **stress materno-fetale e perinatale** giochi un ruolo di prim'ordine nella **alterata programmazione epigenetica di fondamentali aree del cervello e del cosiddetto asse dello stress**.

Vari studi, tanto sperimentali su animali che epidemiologici, hanno infatti dimostrato come i soggetti che abbiano sofferto durante l'infanzia maltrattamenti, isolamento sociale e gravi carenze affettive corrano seri rischi di andare incontro, anche dopo decenni, a depressione maggiore³²², alterazioni permanenti dell'asse dello stress³²³ e persino **lesioni irreversibili dell'ippocampo e delle arborescenze dendritiche dei neuroni della corteccia frontale**³²⁴. Ed è importante ricordare come, in questi stessi soggetti, siano evidenziabili un incremento significativo dei marcatori di neuro-infiammazione cronica³²⁵ e disturbi endocrino-metabolici quali obesità, diabete 2-ipercolesterolemia-ipertensione (sindrome metabolica), malattie cardiovascolari e polmonari croniche, cancro³²⁶ e come il meccanismo eziopatogenetico di base sembri consistere in lesioni epigenetiche, genetiche o addirittura cromosomiche, la più rivelante delle quali è forse la "fragilizzazione" dei telomeri che apre la strada a senescenza precoce, malattie croniche e cancro³²⁷.

Studi epidemiologici hanno dimostrato come l'esposizione prenatale a eventi stressanti sia associata ad un au-

mento significativo di rischio per disturbi dell'apprendimento, autismo, epilessia, schizofrenia e depressione e inoltre a bassa tolleranza allo stress, anomalie immunitarie e neuro-infiammazioni³²⁸. Un famoso studio epidemiologico, pubblicato nel 2008 sul *Journal of Autism and Developmental Disorders*, ha infine documentato un'alta incidenza di disturbi dello spettro autistico nei bambini nati da madri residenti durante la gravidanza in zone colpite da uragani e tempeste tropicali³²⁹.

LE BASI GENETICHE DELL'AUTISMO

Il primo punto che dobbiamo prendere in considerazione concerne il problema di **cosa si debba intendere per basi genetiche dell'autismo**. Possiamo sintetizzare lo "stato dell'arte" dicendo che, dopo decenni di intense ricerche, anche se gli studi sui gemelli, fratelli e familiari di bambini autistici attestano l'esistenza di una base genetica e pur essendo stato evidenziato un gran numero di rare mutazioni in geni chiave e di interazioni multi-geniche concernenti comuni varianti genetiche³³⁰ che potrebbero svolgere un ruolo significativo nella genesi di queste patologie, non è stato fin qui possibile indicare specifiche mutazioni in grado di aumentare il rischio³³¹.

Tre concetti importanti sono anzi emersi. In primo luogo l'**estrema eterogeneità genetica e clinica** dei disturbi dello spettro autistico³³²; in secondo luogo la particolare frequenza delle **mutazioni *de novo***, cioè presenti nel bambino affetto, ma non nei genitori; il fatto, infine, che **non un solo gene identificato finora come associato all'autismo, provoca questa patologia** e nient'altro (i geni associati a disturbi dello spettro autistico, sono mutati anche in altri disturbi dello sviluppo cerebrale: dato che non dovrebbe stupire, visto che le proteine codificate da questi geni sono neurotrasmettitori, fattori di controllo della proliferazione neuronale ecc.).

Abbiamo visto come, per quanto concerne le **cause** dell'autismo, siano state avanzate molte ipotesi; come, al momento attuale, si tenda ad affermare che, trattandosi di una **patologia essenzialmente "genetica"**, molte delle cause **ambientali** proposte (*da un lato* vaccini, mercurio e altri metalli pesanti, pesticidi ecc....) sarebbero state "dimostrate poco verosimili o addirittura insussistenti"; come una simile valutazione sia in **patente contrasto con il drammatico incremento** di tali patologie, che si cerca di spiegare, contro ogni evidenza, in modo non dissimile a quanto avviene nel campo dei tumori infantili, con l'affinamento e più in generale con il cambiamento dei criteri diagnostici; come la definizione stessa di tali disturbi come malattie "essenzialmente genetiche" si fondi su studi epidemiologici che interpretano in tal senso (al pari di quanto avviene, ad esempio, per l'obesità) i dati concernenti la familiarità e, in particolare, la maggior incidenza tra gemelli monozigoti, che possono essere spiegati altrettanto bene sulla base di **alterazioni genetiche ed epigenetiche *de novo*** concernenti i gameti e/o direttamente il feto.

In questo senso assumono grande valore gli studi genomici più recenti che dimostrano appunto come **la ricerca di specifici fattori genetici di rischio tradizionali (polimorfismi e mutazioni ereditarie) sia stata fin qui poco fruttuosa** e come **le alterazioni genetiche più importanti sembrano essere, come detto, mutazioni *de novo***, che non sono presenti nelle cellule somatiche dei genitori, perché si sarebbero prodotte nei loro gameti o nel corso dello sviluppo embrio-fetale, a dimostrazione che l'autismo è una patologia **genomica congenita e potenzialmente trans-generazionale, piuttosto che genetica *sensu stricto* ed ereditaria**.

AUTISMO: DALLA GENETICA ALL'EPIGENETICA

Che meccanismi epigenetici siano coinvolti nelle malattie del neurosviluppo è del resto noto da tempo. Almeno da quando si è compreso che **persino nelle due forme di autismo meglio definite sul piano genetico, le sindromi di Rett e del X fragile, il meccanismo patogenetico effettivo è, a livello molecolare, epigenetico** e determina anche la gravità del quadro clinico.

Nella Sindrome del X fragile si ha infatti un incremento di copie del gene FMR1 (>250), ma da oltre 20 anni sappiamo che la sintomatologia è in realtà dovuta alla **ipermetilazione secondaria** e quindi al **silenziamento epigenetico** del gene mutato³³³ e che la gravità del quadro clinico dipende direttamente dall'estensione delle metilazioni nella regione 5' del gene³³⁴.

Anche per quanto concerne la **sindrome di Rett**, il gene mutato (**MECP2**), è noto da tempo, ma il dato più interessante è che tale gene codifica per una proteina che svolge un ruolo fondamentale in ambito epigenetico: essa fa infatti parte di una famiglia di proteine (MBD1, MBD2, MBD3, MBD4 e appunto MeCP2) che contengono il dominio MBD, che si lega alle citosine della sequenza *promoter* di molti geni e recluta altri fattori e co-fattori proteici per reprimerne la trascrizione³³⁵. Si tratta, insomma, di una delle proteine che regolano la più abbondante modifica epigenetica presente nel genoma dei vertebrati e che svolge un ruolo fondamentale nei processi di espressione genica.

Nei disturbi di **spettro autistico** è stata documentata l'alterata metilazione di numerosi altri geni³³⁶, come si era già verificato per la **schizofrenia** (ipermetilazione del gene codificante per la reelina)³³⁷ e per le **sindromi bipolari** (ipometilazione del gene codificante per la catecol-O-metiltransferasi)³³⁸.

È importante ricordare, ancora una volta, che la gran parte delle metilazioni e delle altre marcature epigenetiche vengono definite durante lo **sviluppo embrio-fetale**. In questo ambito gli studi più interessanti sono probabilmente quelli concernenti le drammatiche conseguenze di uno *stress* prenatale, perinatale o comunque precoce e prolungato.

Per quanto concerne **i meccanismi molecolari all'origine dell'alterata programmazione d'interesse aree cerebrali e dell'asse ipotalamo-ipofisario-surrenalico**, gli studi più importanti sono quelli di Szyf e Meaney, che hanno documentato le differenti marcature epigenetiche specifiche in aree chiave del cervello, in animali che abbiano ricevuto cure affettuose dai propri genitori nelle primissime fasi della vita e in quelli che, al contrario, hanno sperimentato situazioni di grave deprivazione affettiva³³⁹. Alcuni dati veramente stupefacenti sono emersi da questi studi: in particolare **la possibile trasmissione transgenerazionale delle marcature epigenetiche**, per cui l'incapacità di curare amorevolmente la propria progenie potrebbe addirittura trasmettersi da una generazione all'altra.

Sarebbe importante sottolineare ancora come tali studi rappresentino una sorta di **prova del nove del fatto che i fattori psicologici possono svolgere un ruolo patogenetico fondamentale**, e che, come detto nel precedente capitolo, **non ha alcun senso continuare a separare concettualmente ciò che è psichico da ciò che è organico, come se anche ciò che è psichico non fosse comunque l'effetto di precisi meccanismi biologici, in questo caso epigenetici**.

È infine importante ricordare come gli studi di Szyf e Meaney abbiano avuto un'ulteriore, stupefacente sviluppo in ambito umano: **l'analisi dei tessuti cerebrali prelevati nelle autopsie di soggetti suicidi** hanno infatti chiaramente documentato come le suddette *epimutazioni* si trovino esclusivamente in quanti avevano subito gravi maltrattamenti e deprivazioni affettive nelle prime fasi della vita.

Un'altra teoria piuttosto interessante è, in questo contesto, quella secondo cui **livelli eccessivi di testosterone** nel liquido amniotico potrebbero indurre una sorta di **"mascolinizzazione"** del cervello: secondo questa teoria (*ES Theory*), a causa di questo *imprinting* ormonale (quindi biochimico) il **cervello del bambino autistico tenderebbe a razionalizzare e sistematizzare (*Systemizing*)**, piuttosto che a sentire in modo empatico e a comunicare (*Empathizing*).³⁴⁰

La teoria, da taluni anche definita come *Extreme Male Theory*, è stata anche collegata con la cosiddetta *Teoria del cervello imprintato*, una teoria simile, ma non identica, che considera autismo e psicosi disturbi in un certo senso speculari e dovuti a un ***imprinting* genomico sbilanciato, che nel primo caso favorirebbe l'espressione dei geni paterni, nel caso delle psicosi quella dei geni materni**³⁴¹.

L'interesse per queste teorie potrebbe essere ridestato da alcuni studi genetici recenti, che dimostrano come molti geni associati all'autismo si trovino nei *loci* caratterizzati da **imprinting genomico**, in particolare sui cromosomi 7 e 15. Per meglio capirlo dobbiamo un minimo approfondire alcune delle principali, recenti acquisizioni nel campo della genomica dell'autismo.

● Le Copy Number Variations

Abbiamo visto come il dato più importante che emerge dai più recenti studi genomici concerna il grande numero di mutazioni *de novo*, in particolare variazioni del numero di copie di geni o di segmenti genici (**CNVs-Copy Number Variations**: delezioni o duplicazioni): mutazioni reattivo/difensive, che sembrerebbero prodursi soprattutto **nel corso delle meiosi che caratterizzano la gametogenesi nei genitori dei soggetti affetti**.

È anche interessante notare che **questo tipo di mutazioni sarebbero più frequenti nei casi privi di familiarità per disturbi dello spettro autistico**, a conferma del fatto che le mutazioni *de novo* (ereditarie, ma appunto non presenti nel genoma parentale) potrebbero svolgere un **ruolo-chiave nel recente incremento di incidenza che caratterizza tutte queste patologie**³⁴².

Questa notazione appare tanto più significativa in relazione al fatto che le **CNVs rappresentano, insieme alle modifiche concernenti le cosiddette sequenze mobili**, praticamente in tutti gli organismi viventi (e quindi anche in ambito evolutivo), l'esempio più emblematico e significativo di **mutazione reattivo-adattativa** (nel senso che sono le sequenze geniche specificamente attivate da determinate sostanze genotossiche a essere "amplificate").

A questo proposito è utile ricordare che le CNVs furono scoperte e studiate in modo approfondito già negli anni '70 del secolo scorso, tanto negli **animali che nelle piante**. Nella rana *Xenopus*, ad esempio, furono documentate, essenzialmente negli oociti, drammatiche amplificazioni genetiche, concernenti lunghi frammenti di nucleotidi (in genere per induzione della replicazione di singoli *repliconi*, invece dell'intero cromosoma). Nelle piante la formazione di CNVs si attiva in contesti ormonali particolari e può diventare **trans-generazionale** (Durrant, Cullis).

Per quanto concerne l'ambito umano è utile ricordare come alcuni anni fa si calcolò che tra due soggetti della nostra specie si ha una variabilità di circa 20 milioni di micro duplicazioni segmentali³⁴³. La successiva "caccia alle **micro-variazioni** (in particolare micro-duplicazioni e micro-delezioni)" **significativamente associate a differenti disturbi e malattie** ha dato origine al campo, in continuo sviluppo, dei cosiddetti **disordini genomici**³⁴⁴. E tra i settori di indagine che hanno dato risultati più eclatanti è emerso proprio quello dei disturbi dello sviluppo neuropsichico, in particolare per ciò che concerne i disturbi dello spettro autistico³⁴⁵ e la schizofrenia³⁴⁶.

Nel 2007 un importante studio Genome Wide fu pubblicato su *Science*: erano state sottoposte a *screening* per le microvariazioni genetiche 264 famiglie (165 famiglie con bambini autistici e 99 famiglie di controllo) e gli autori avevano trovato, nelle famiglie con disturbi della sfera autistica, un'incidenza sproporzionata di mutazioni *de novo*: 12 micro-delezioni e duplicazioni tra le famiglie colpite rispetto a 2, in media, tra i controlli, il che rappresentava un incremento di circa tre volte del tasso di mutazione. Inoltre quasi tutte le CNVs associate all'autismo concernevano geni già noti per essere implicati in queste patologie³⁴⁷.

Uno studio simile, di poco successivo, documentò l'importanza di alcune rare CNVs in numerosi *loci* precedentemente associati a **schizofrenia**³⁴⁸. Gli autori di questo studio osservarono che alcune micro-delezioni e micro-duplicazioni (100Kb), non ancora registrate nel *database* delle *Genomic Variants*, erano presenti nel 15% dei casi di schizofrenia (una frequenza di oltre tre volte superiore a quella attesa) e che le mutazioni concernevano frequentemente geni che svolgono un ruolo di controllo nelle reti di segnalazione cellulare implicate nello sviluppo del sistema nervoso.

Nel giugno del 2010 comparve su *Nature* un altro studio *Genome Wide*, concernente le CNVs associate ai disturbi dello spettro autistico e anche in questo caso la gran parte dei soggetti esaminati presentava un numero assai rilevante di CNVs rare, in *loci* genetici già precedentemente connessi ai disturbi dello spettro autistico e ad altre patologie neuropsichiche. Soprattutto, per la quasi totalità queste mutazioni non erano ereditarie, ma appunto *de novo events* e concernevano spesso geni che controllano programmi di proliferazione, formazione di sinapsi e, in generale, la “segnalatica” cellulare e intercellulare³⁴⁹. Gli autori sottolineavano come il fatto che ogni bambino presentasse un suo proprio profilo genetico attestasse che all’origine dei disturbi dello spettro autistico sono “rare CNVs” *de novo* che si verificano nel corso della gametogenesi o nelle prime fasi dell’ontogenesi.

Si tratta di dati estremamente importanti e fin qui, forse, sottovalutati: se è vero, infatti, che le **mutazioni genetiche più frequenti e importanti nell’ambito delle patologie dello spettro autistico non sono mutazioni ereditarie “tradizionali”, ma appunto micro-mutazioni *de novo* e per di più reattivo-adattative-difensive nei confronti di non meglio determinati fattori di stress il problema delle esposizioni ambientali transplacentari o addirittura transgenerazionali torna prepotentemente alla ribalta**. [È importante notare che per distinguere queste seconde modifiche (gametiche e potenzialmente trans-generazionali) dalle prime (transplacentari e individuali) bisognerebbe verificarne la presenza in tutti o soltanto in alcuni organi e tessuti del bambino e che per verificare se un eventuale incremento di micro-mutazioni reattivo-difensive in epoca post-natale potrebbe svolgere un ruolo patogenetico importante, sarebbe anche utile monitorare le possibili variazioni dei tassi di mutazione post-natale].

Tutto questo è, lo ripetiamo, degno di nota e suggestivo: tanto più che un altro dato importante che emerge prepotentemente dai più recenti studi genomici sembra fornire ulteriori spunti di riflessione, potenzialmente utili per meglio comprendere e definire l’intera problematica.

● **Gli hotspots epigenetici dell’autismo**

Anche in questo caso conviene fare riferimento a una importante *review*, comparsa nel 2006 su *Human Molecular Genetics*, con il titolo *Epigenetic of autism spectrum disorders*³⁵⁰.

L’articolo parte ricordando come tutti i tentativi fin qui effettuati per definire gli eventuali geni collegati a un maggior rischio di contrarre patologie dello spettro autistico siano stati fin qui elusivi, con l’eccezione significativa di alcuni dati concernenti tanto i geni sicuramente collegati a quadri sindromici specifici (come il gene **MeCP2** nella Sindrome di Rett e il gene **FXS** nella sindrome dell’X fragile, dei quali abbiamo già detto), quanto i principali studi di *disequilibrium linkage*, che hanno evidenziato come una parte significativa di geni associati alle patologie dello spettro autistico siano **geni imprantati** (cioè epigeneticamente marcati nei gameti paterni e materni, così da essere differenzialmente espressi nella prole in base all’origine parentale) o comunque risiedano in *loci* genomici contenenti i principali *cluster* di *geni imprantati*.

Questa associazione tra geni probabilmente implicati nelle patologie del neurosviluppo e geni *imprantati* (o piuttosto *loci* caratterizzati da *imprinting*) è in genere descritta dalla letteratura scientifica come probabilmente rilevante, ma tuttora inesplicita: anche è soprattutto in ragione del fatto che a essere fin qui misterioso è lo stesso, importantissimo meccanismo di controllo che va sotto il nome di **imprinting genomico** e che concerne nella nostra specie almeno un’ottantina di geni (molti ricercatori sono però convinti si tratti di un meccanismo assai più rilevante ed esteso nell’ambito del nostro genoma).

Non ci è possibile in questa sede entrare in eccessivi dettagli per quanto concerne il reale significato dell’**imprinting genomico**. Ci è sufficiente ricordare come si tratti di un importante meccanismo mediante il quale alcune specifiche marcature epigenetiche (sia metilazioni del DNA, che modifiche istoniche), fissate nei **gameti** e mantenute nelle cellule somatiche, determinano **l’espressione monoallelica di alcuni geni, di derivazione**

paterna o materna, senza che si abbia una modifica della sequenza del DNA. È anche importante notare come molti di questi geni siano coinvolti nel **controllo dello sviluppo placentare ed embrio-fetale (in particolare per quanto concerne proprio il cervello)**³⁵¹ e quindi nel controllo delle **relazioni madre-feto**³⁵²; come i principali geni umani *imprantati* siano **raccolti in cluster (il che consente un miglior controllo epigenetico complessivo)**; come i più importanti *cluster* si trovino in specifici *loci* sui cromosomi 7 e 15; come i geni fin qui più frequentemente associati a disturbi di tipo autistico (e, in parte, anche alla schizofrenia) si trovino in questi specifici *loci* cromosomici.

In ambito “neo-darwinistico” questa perdita dello stato diploide rappresenta un rischio e un limite ed è difficile da spiegare sul piano evolutivo. La teoria dominante (chiaramente collegata ad una visione di tipo *dawkiniano*, in cui i geni utilizzano “egositicamente” gli organismi)³⁵³ è quella secondo cui l’“interesse” dei geni paterni sarebbe quello di favorire il proprio erede, mentre quello del genoma materno sarebbe di preservare la madre per ulteriori, possibili gravidanze: l’*imprinting* genomico sarebbe, insomma, un **controllo competitivo dell’espressione genica tra i due genitori (e in un certo senso anche tra feto e madre)**³⁵⁴.

In un modello bioevolutivo e genomico fluido e “costruttivo”, l’esistenza nel nostro genoma di un centinaio di geni *imprantati*, cioè epigeneticamente marcati in modo differente a seconda della loro derivazione materna o paterna, potrebbe invece servire a **garantire una certa libertà di questi geni dal controllo biallelico ed un più diretto controllo materno dello sviluppo embrio-fetale (e in particolare del cervello fetale)** da parte della madre, utile per l’ovvio motivo che è soltanto l’organismo materno a dover controllare e modulare in queste prime fasi lo sviluppo del bambino. In quest’ottica le teorie più accettabili e interessanti appaiono quella “**coadattative**”, secondo cui appunto il controllo dell’*imprinting* è tanto in ambito filogenetico, che in quello ontogenetico essenzialmente materno e serve appunto a **miglior adattare lo sviluppo embrionfetale alle esigenze della diade materno-fetale** (e in particolare a rallentare e ritardare lo sviluppo cerebrale del feto, che tenderebbe a essere eccessivo)³⁵⁵.

È anche utile ricordare che le prime **patologie genetiche identificate come dovute a una alterazione dell’*imprinting* genomico** sono la **sindrome di Prader-Willi** e quella di **Angelman**; che entrambe le sindromi sono associate a delezioni o alterazioni epigenetiche della **regione cromosomica 15q11-13**, che contiene tutta una serie di geni *imprantati* e non; che entrambe le sindromi sono **caratterizzate da sintomatologia di tipo di autistico** spesso grave (in particolare la Angelman) e da altri sintomi neurologici (convulsioni, ipotonia, deficit intellettuale etc.); che **le più comuni anomalie citogenetiche ricorrenti nei disturbi dello spettro autistico comportano duplicazioni di origine materna dello stesso dominio in 15q11-13**³⁵⁶.

Non ci è possibile riflettere ulteriormente, in questa sede, su queste problematiche. Possiamo però affermare che la notevole frequenza con cui nei disturbi autistici mutazioni ed epimutazioni concernono geni *imprantati* o anche geni non *imprantati*, ma situati negli stessi *loci* genici in cui sono posizionati i *cluster* dei geni *imprantati* e codificanti per proteine con ruoli importanti nella sinaptogenesi e nel controllo della proliferazione neuronale, sembrerebbe suggerire, ancora una volta, un’alterata relazione materno-fetale all’origine di tali patologie.

Dal nostro punto di vista è addirittura possibile ipotizzare che solo la comprensione dei meccanismi dell’*imprinting* potrebbe aiutarci a capire le basi genomiche dell’autismo e delle altre patologie del neurosviluppo e/o, per converso, che soltanto una miglior comprensione dei meccanismi genomici all’origine di queste patologie potrebbe aiutarci a comprendere il senso e i meccanismi basilari dell’*imprinting*.

Riassumendo brevemente i principali dati certi che abbiamo a disposizione, possiamo dire che: i geni *imprantati* sono intensamente espressi e svolgono un ruolo-chiave durante lo sviluppo embrio-fetale e, in particolare, nell’ambito e nel corso dello sviluppo del sistema nervoso centrale; che la tesi oggi dominante per quanto concerne le origini evolutive dell’*imprinting* è quella, ancora una volta e inevitabilmente *neo-darwinistica (competitivo-selettiva)* secondo cui l’*imprinting* sarebbe l’effetto della competizione tra **geni della linea paterna**,

che avrebbero per così dire l'interesse di promuovere lo sviluppo del feto, cioè di colui che dovrà perpetuare il proprio "corredo genetico" e **geni matrilineari**, che tenderebbero a preservare la madre per garantirsi la possibile trasmissione attraverso gravidanze prossime, venture (una concezione che, come detto, evoca o sottende quella *dawkiniana* di *selfish gene*)³⁵⁷; che tra le ipotesi alternative sembrerebbe emergere quella (di stampo *co-evolutivo* e *costruttivo*) secondo cui l'*imprinting* servirebbe a garantire un più diretto "controllo genomico materno" sullo sviluppo e in particolare sull'impetuoso sviluppo cerebrale del feto.

Come detto non sarebbe possibile analizzare più a fondo, in questa sede, una problematica tanto articolata e complessa: ci sembra però abbastanza evidente che il fatto stesso che alterazioni genetiche o epigenetiche a carico di geni *imprintati* possano determinare patologie del neurosviluppo dimostri come il problema concerna piuttosto il diretto controllo parentale (in particolare materno: la prevalenza del controllo materno sull'*imprinting* sembra emergere, del resto, con sempre maggior forza e evidenza dalla letteratura specifica più recente)³⁵⁸ sullo sviluppo cerebrale del feto, che non, appunto, ipotetici "conflitti genetici di genere".

UN ACCENNO ALLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Le principali malattie neurodegenerative (e infiammatorie) per le quali è stata ipotizzata **un'origine tossica ed epigenetica**, da esposizione **precoce** (persino **prenatale**) a **metalli pesanti** (in particolare **piombo, mercurio, manganese**), **pesticidi** o **PCBs** sono le malattie di **Parkinson** e di **Alzheimer**³⁵⁹.

Per cercare di illustrare sinteticamente la tematica faremo riferimento alla seconda, che costituisce notoriamente la più frequente forma di demenza senile, caratterizzata da una perdita progressiva della memoria e delle capacità cognitive ed è in grande aumento in tutto il nord del mondo. Se nel 2006 la prevalenza mondiale di AD è stata, infatti, di circa 26,6 milioni di soggetti affetti, si stima che tale numero quadruplicherà entro il 2050, il che significa che sarebbero 1:85 le persone affette nel mondo³⁶⁰.

La **malattia di Alzheimer (AD)** è attribuibile solo in una minoranza dei casi (casi *familiari*: **10%** circa) a cause genetiche *sensu stricto*. Le mutazioni specifiche identificate finora, trasmesse con modelli di eredità mendeliana, concernono tre geni, **APP, PSEN1 e PSEN2**: mutazioni a carico del gene **APP** fanno aumentare i livelli totali di A β o solo quelli della forma A β 42, che è il principale componente delle placche senili; mutazioni nei geni **PSEN1 e PSEN2**, che codificano rispettivamente per le proteine presenilina 1 e 2, componenti del complesso delle γ -secretasi, che mediano il taglio proteolitico dell'APP, provocano generalmente un aumento della produzione di A β 42³⁶¹. **Ma nel restante 90% circa dei casi (casi sporadici) sono certamente in causa fattori ambientali: in particolare i metalli pesanti sembrerebbero poter avere un ruolo fondamentale nell'induzione delle modifiche epigenetiche precoci**, rilevanti per l'insorgenza della malattia.

Una riprova indiretta, ma alquanto significativa è venuta dagli studi sperimentali nei quali **la prole di scimmie esposte a metalli pesanti durante la gravidanza** sviluppò nel giro di pochi anni le lesioni tipiche e una sintomatologia sovrapponibile a quella della malattia umana, nonché modifiche epigenetiche specifiche a carico di geni fondamentali per la produzione e la deposizione di b-Amiloide, come APP e PSEN1³⁶².

Ancora più drammaticamente significativi sono i già citati studi condotti in città caratterizzate da notevole inquinamento atmosferico: i primi di questi studi, che fecero un certo scalpore, furono condotti tra i cani di Città del Messico e documentarono un **legame diretto tra esposizione precoce a metalli pesanti e particolato ultrafine, indici di flogosi a carico delle vie aeree e del sistema nervoso centrale** (espressione di Nf κ B e iNos negli endoteli corticali), **danneggiamento progressivo della barriera emato-cerebrale, dei neuroni corticali e della microglia, depositi precoci di b-amiloide (A β 42) e strutture neuro-fibrillari in corteccia frontale e ippocampo**³⁶³, le stesse aree maggiormente interessate dalla malattia in ambito umano.

Alcuni anni dopo lo stesso gruppo di epidemiologi e pediatri americani e messicani documentarono la presenza di lesioni del tutto simili in **reperti autoptici** di giovani residenti nelle stesse aree e deceduti per cause accidentali: l'esistenza di una **flogosi distrettuale e sistemica** fu avvalorata da un aumento indicativo della ciclo-ossigenasi 2 (COX2) e di alcune citochine (IL-1b) particolarmente nel bulbo olfattivo e nel lobo frontale (un dato utile per documentare il percorso del processo tossico-infiammatorio)³⁶⁴. A questo proposito è utile ricordare come la presenza di particolato ultrafine e sostanze tossiche sia stata anche documentata nel bulbo olfattivo, nel cervello e nel cervelletto di ratti esposti³⁶⁵.

Il ruolo patogenetico fondamentale della flogosi e dello *stress* ossidativo indotti dall'inquinamento atmosferico negli endoteli, a carico del tessuto nervoso e a livello sistemico è stato così dimostrato dapprima a livello sperimentale³⁶⁶, poi anche in ambito umano³⁶⁷. Il ruolo svolto dalla ciclo-ossigenasi nell'attivazione dei circuiti citochinici e chemochinici è stato dimostrato sia in animali di laboratorio sia in soggetti affetti da malattie neurodegenerative³⁶⁸. Ed anche in questo caso il ruolo patogenetico dei metalli è risultato importante³⁶⁹.

In questo contesto un modello patogenetico interessante recentemente proposto è il ***Latent Early-Life Associated Regulation (LEARn) model***³⁷⁰, secondo cui **l'esposizione precoce (in genere embrio-fetale) a metalli pesanti, fattori dietetici, stress ossidativo e incremento di citochine potrebbe indurre specifiche alterazioni epigenetiche con espressione eccessiva di APP (β -Amyloid Precursor Protein) e di altri geni fondamentali per la produzione e deposizione di b-Amiloide, come PSEN1, APOE, deposizione di A β 42**. In particolare l'esposizione a metalli pesanti come cadmio e piombo sembrerebbe poter inibire l'espressione e/o interferire con l'azione della ***DNA-metiltransferasi***, provocando una ipometilazione delle sequenze *promoter* dei suddetti geni, primo fra tutti il gene codificante per la APP: un dato significativo, che dimostra, ancora una volta, come un'esposizione tossica prenatale possa indurre una programmazione epigenetica destinata a rivelarsi dopo decenni³⁷¹.

Infine ci sembra importante ricordare uno studio che contribuisce ulteriormente alla definizione del ruolo chiave delle modifiche epigenetiche nella malattia di Alzheimer e, più in generale, della modulazione epigenetica nella determinazione del nostro fenotipo. In tale studio, comparso nel 2009 su PLoS One, **in un gruppo di gemelli monozigoti discordanti per la malattia di Alzheimer, è stata riscontrata una riduzione significativa dei livelli di metilazione del DNA nei neuroni della neocorteccia temporale del gemello AD**³⁷². Un dato importante che fornisce un semplice modello esplicativo della discordanza fenotipica in questa e, possibilmente, in molte altre patologie cronico-degenerative³⁷³ e conferma il ruolo della modulazione epigenetica tra eventi di vita e determinazione del nostro fenotipo.

CONCLUSIONI

Abbiamo cercato di dimostrare come, alla luce dei nuovi modelli epigenetici e di genoma fluido proprio l'autismo e le malattie del neurosviluppo (ma anche quelle neurodegenerative, prima fra tutte la Malattia di Alzheimer) rappresentino **l'esempio più emblematico di patologie epigenetiche e quindi ambientali e genetiche al tempo stesso: di malattie trans-generazionali (da modifiche epigenetiche e genetiche nei gameti) e/o dello sviluppo embrio-fetale, dovute a esposizione transplacentare precoce a fattori genotossici come i metalli, con il concorso probabile di fattori epigenotossici, come perturbatori endocrini e campi elettromagnetici**.

Quanto detto fin qui rende assolutamente necessario **riconsiderare il problema delle esposizioni ambientali plurime precoci e/o gametiche e la possibile sinergia tra queste, che potrebbero aver determinato l'instabilità epigenetica e indotto le mutazioni reattive**.

Dovrebbe apparire, a questo punto, ancora più urgente il **cambio di prospettiva e di paradigma** da noi auspi-

cato. Dovrebbe essere sempre più evidente come, non solo per quanto concerne le malattie del neurosviluppo e neurodegenerative, ma per tutte le patologie cronico-degenerative, infiammatorie e neoplastiche, **anziché limitarci a cercare nel DNA le cause genetiche predisponenti (mutazioni e polimorfismi)**, dovremmo abituarci sempre di più a cercare le **marcature epigenetiche e le modifiche genetiche reattivo-difensive indotte (in specie nelle primissime fasi della vita) da diversi stressors esogeni (ambientali) ed endogeni**.

Ed é sempre più evidente che tutto questo richiede il passaggio a un modello di genoma dinamico e reattivo, capace di auto-ingegnerizzarsi sulla base delle informazioni e al contempo disorientato dalle dis-informazioni provenienti dall'ambiente esterno e interno (agenti chimici come metalli pesanti e distruttori endocrini, fisici come campi elettromagnetici di specifica frequenza, segnali endogeni di *stress*): da tutto un flusso di informazioni, insomma, che, come detto, non va in modo "lineare e unidirezionale" dal DNA all'RNA alle proteine, ma piuttosto in modo circolare dall'ambiente, all'epigenoma, al DNA, alle proteine e quindi ancora all'epigenoma e al genoma.

Vorremmo sottolineare ancora che, se è vero che nessuna delle suddette ipotesi concernenti singoli fattori ambientali quale causa determinante dell'autismo ha trovato, fin qui, conferma sostanziale e definitiva, almeno in ambito epidemiologico (l'ambito oggi di fatto ritenuto il solo sufficiente e necessario a comprovare un'ipotesi di eziologia ambientale di malattie o disturbi), è anche vero che **tutto questo non prova in alcun modo che l'esposizione precoce a uno o più tra i fattori ambientali su elencati non rappresenti un possibile o probabile fattore maggiore di rischio**. E questo per vari motivi: perché è assolutamente vero che metalli pesanti e molte altre sostanze certamente neurotossiche, sono presenti nell'aria che respiriamo, nelle catene alimentari inquinate, nei tessuti materni, nel sangue cordonale placentare; che tanto i bambini, che embrioni e feti, che gli stessi gameti sono **esposti quotidianamente a piccole o grandi quantità di tutti gli agenti inquinanti e stressogeni sopra elencati**; che **sono queste piccole dosi quotidiane a interferire maggiormente sull'assetto epigenetico di cellule e tessuti** e che a differenza delle mutazioni puntiformi e stocastiche della sequenza di DNA, **queste epimutazioni e le stesse mutazioni reattive di sequenza (come la mobilitazione delle sequenze mobili e alcune variazioni di numero di copie) possono progressivamente accumularsi nei genomi e trasmettersi "verticalmente" da una generazione cellulare all'altra (e in alcuni casi da un soggetto all'altro)**; che tutti questi fattori possono agire sinergicamente sullo stesso bersaglio e che lo stesso discorso vale per farmaci, vaccini, *stress* materno-fetale, agenti infettivi; che **nessuno studio tossicologico o epidemiologico tradizionale potrebbe valutare l'entità e quindi il rischio connesso a un'esposizione sempre più precoce e collettiva**.

Il che, a ben vedere, significa che dopo aver rilevato quanto irrazionale sia la separazione tra possibili cause psicologiche e fisiche, dobbiamo ribadire come **altrettanto infondata sia la contrapposizione tra cause ambientali e genetiche: valida soltanto in un modello tradizionale in cui il DNA sia ancora considerato da un lato come un potenziale bersaglio passivo di agenti tossici, dall'altro come sede di polimorfismi genici** che potrebbero renderci più deboli e meno reattivi nei confronti degli stessi agenti tossici... Un modello, come visto, del tutto astratto, che alla luce degli studi molecolari più recenti, dovrebbe essere sostituito da un modello di genoma dinamico e reattivo nel quale il genoma sia riconosciuto, come un **network molecolare complesso, unitario, reattivo** alle informazioni che provengono dall'ambiente e in cui non solo le epimutazioni, ma, come detto, **anche molte mutazioni genetiche de novo in specifici loci e geni siano riconosciute come difensive e comunque attive e reattive**.

CAPITOLO 12

ORIGINI AMBIENTALI (EPIGENETICHE) DELLA PANDEMIA DI OBESITÀ e DIABESITÀ DEL XX-XXI SECOLO³⁷⁴

La pandemia di obesità e *diabesità* rappresenta forse l'esempio più emblematico e che meglio illustra quanto detto fin qui intorno alle origini epigenetiche della transizione epidemiologica e sanitaria in atto. Bisogna prima di tutto rilevare che, se per quanto concerne tumori e/o malattie del neuro-sviluppo e neurodegenerative l'incremento drammaticamente progressivo è ancora negato da alcuni, per quanto concerne la "pandemia di obesità e diabesità" non sussistono dubbi di sorta, al punto che le maggiori istituzioni sanitarie del mondo l'hanno definita come la probabile "emergenza sanitaria" del XXI secolo. Definizione che non deve stupire, visto che non si tratta soltanto del diffondersi in tutto il mondo di un *habitus* fenotipico disarmonico in grado di incidere negativamente sulla vita di centinaia di milioni di esseri umani, ma anche e soprattutto di una condizione endocrino-metabolica francamente patologica, in grado di favorire l'insorgenza di gravi complicanze come insulino-resistenza-sindrome metabolica-diabete 2, ipertensione, malattie cardio-vascolari e di altre patologie cronico-degenerative, infiammatorie e neoplastiche. E potenzialmente in grado di travolgere i sistemi socio-sanitari di tutto il mondo, messi già a dura prova dell'incremento drammatico delle altre patologie cronico-degenerative e tumorali.

Sul numero di settembre della rivista *Disease Models & Mechanisms*, interamente dedicato alla pandemia di obesità, si legge che *Homo sapiens sapiens* è la prima e unica specie che sta acquisendo in tempi rapidissimi un nuovo fenotipo: il fenotipo obeso; che tale rapidissima acquisizione di un "nuovo fenotipo" - che si è realizzata in meno di mezzo secolo e che secondo le ultime stime disponibili (2010), concerne 700 milioni di persone (+ 2 miliardi di soggetti in sovrappeso) secondo le definizioni dell'OMS basate sull'indice di massa corporea (BMI) - **pur essendo qualcosa di eccezionale in ambito evoluzionistico, solo in questo ambito può essere studiato e compreso**³⁷⁵.

Un risvolto apparentemente positivo di questa vera e propria transizione epidemiologica consisterebbe nel fatto che, grazie ad essa, ci sarebbero, per la prima volta nella storia umana, più persone sovrappeso in tutto il pianeta che non persone che soffrono di denutrizione. Ma a un'analisi più attenta questa lettura ottimistica si fa problematica, perché la principale differenza tra le due grandi epidemie di malnutrizione, anche simbolicamente opposte, che a questo punto interessano insieme la metà degli abitanti del pianeta è, caso mai, che mentre la denutrizione è semplicemente l'effetto di una situazione economico-politica sbilanciata ed ingiusta, la pandemia di obesità e diabesità che avanza in tutto il pianeta e che secondo alcuni potrebbe tramutarsi in una sorta di *tsunami* in grado di disintegrare i sistemi socio-sanitari del Nord del mondo è probabilmente il sintomo di un grave dis-adattamento evolutivo o meglio, come vedremo, di una rapidamente progressiva **s-programmazione dell'intero circuito endocrino-metabolico** (centrale/ipotalamico e periferico) che dovrebbe regolare introiti e consumi energetici cellulari, tissutali e dell'intero organismo, indotta da condizioni ambientali e nutrizionali troppo rapidamente trasformate³⁷⁶.

Ciò premesso possiamo provare ad affrontare il problema delle origini – ambientali e più specificamente nutrizionali ed epigenetiche – della cosiddetta pandemia di obesità.

Le prime domande che dovremo porci sono le seguenti: ha senso parlare di **pandemia di obesità**? E come la si deve interpretare? Che relazione c'è, se ce n'è una, con le altre "pandemie", che secondo gli esperti rischiano

non solo di mettere in forse i grandi miglioramenti raggiunti in ambito medico e sanitario negli ultimi decenni e di mettere a dura prova i sistemi socio-sanitari del nord del pianeta: il *trend* crescente, negli ultimi decenni, di cancro, malattie immunomediate (autoimmuni e allergiche) e soprattutto malattie del neurosviluppo e neurodegenerative. In sintesi: che posto ha la pandemia di obesità e diabesi nell'ambito della transizione epidemiologica del XX-XXI secolo? E ancora: quale tra le ipotesi patogenetiche, di volta in volta proposte, per spiegare alcuni aspetti della "rivoluzione epidemiologica" - l'Ipotesi di Barker, l'ipotesi igienica, l'ipotesi infiammatoria e quella della trasformazione del microbiota - tutte teorie in qualche modo chiamate in causa per spiegare anche l'incremento di obesità e diabesi, sembra poter fornire risposte più convincenti?

● Prima domanda: esiste una pandemia di obesità?

La prima domanda che dobbiamo porci è dunque la seguente: ha senso parlare di un'epidemia di obesità e *diabesi*³⁷⁷ e quali sono le sue dimensioni?

In effetti di un'epidemia mondiale di obesità si parla ormai da oltre un decennio³⁷⁸. La prevalenza di sovrappeso e obesità in età infantile è in aumento in tutto il mondo ad un tasso allarmante: oggi, circa uno su tre bambini e adolescenti negli Stati Uniti è in sovrappeso o obeso; negli ultimi tre decenni, la prevalenza dell'obesità è triplicata per i bambini di 2-5 anni e per i giovani di 12-19 anni, e quadruplicata per i bambini di 6-11 anni³⁷⁹. Migliaia di articoli sulla stampa scientifica, oltre che su riviste e giornali popolari, hanno trattato di questo drammatico incremento: negli ultimi dieci anni sono stati recensiti da PubMed circa 22.300 articoli che hanno la parola obesità nel titolo; inserendo nella ricerca anche gli articoli con il termine obesità nell'*abstract*, il numero complessivo risulta praticamente triplicato³⁸⁰.

Si è cercato di calcolare l'impatto negativo sulla salute della popolazione di questa "epidemia della globalizzazione" paragonandone gli effetti nocivi a quelli connessi al consumo di tabacco e di alcool³⁸¹. Pur essendo una tematica complessa e dibattuta sussistono ormai pochi dubbi circa il fatto che questo incremento, praticamente planetario, sia strettamente connesso al grado di industrializzazione, urbanizzazione e rapidità di sviluppo delle diverse società³⁸².

Dati epidemiologici generali & trends di obesità infantile nel mondo e in Italia

La pubblicazione del *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES IV) 1999-2000-2002* è stata fondamentale nel portare il problema all'attenzione dei medici, ma anche del pubblico³⁸³. I dati mostravano come quasi il 65% della popolazione adulta negli Stati Uniti fosse **sovrappeso** (indice di massa corporea (BMI) maggiore di 25 kg/m²) rispetto al 56% del *NHANES III* (dati 1988-1994). La prevalenza di **obesità** (definita come indice di massa corporea superiore a 30 kg/m²) è aumentata drammaticamente da 23 a 31% nel corso dello stesso periodo di tempo.

I bambini non sono immuni dall'epidemia, con una prevalenza di obesità nei bambini e negli adolescenti fino al 36% (da 11 a 15%) nello stesso lasso di tempo. Gli studi più recenti affermano che ormai un cittadino americano su 3 (34%) è affetto da obesità patologica (BMI >30) e che addirittura il 68% è sovrappeso (BMI > 25)³⁸⁴.

La maggior parte dei paesi sta sperimentando incrementi notevoli anche se in genere minori di quelli americani. A titolo di esempio, la prevalenza di persone in sovrappeso in Cina è raddoppiata nelle donne e quasi triplicata negli uomini nel periodo 1989-1997. I tassi di obesità nei ragazzi canadesi sono aumentati dall'11% nel 1980 a oltre il 30% nel 1990, mentre nei bambini brasiliani l'aumento è stato dal 4 al 14%. Nel 2006, la "*Carta Europea sull'azione di Contrasto all'Obesità*", siglata dagli Stati membri della Regione Europea dell'OMS, ha definito il fenomeno una delle minacce più serie per la sanità pubblica³⁸⁵.

Poche sono le aree del pianeta nelle quali il fenomeno non si è ancora verificato: tra queste spicca la situazione di Giappone e Sud Corea, dove i tassi di obesità sono dieci volte inferiori. Si tratta di un dato di non facile interpretazione: è difficile sostenere che le differenze alimentari o negli stili di vita siano tali, oggi, da giustificare una simile "resistenza" all'incremento "epidemico". Difficile anche ipotizzare che le differenze

genetiche *sensu stricto* (che non spiegano, se non in minima parte, l'incremento generale e soprattutto la sua drammaticità) possano aiutarci a risolvere il problema. Del resto neppure le altre ipotesi generalmente messe in campo per spiegare l'epidemia di obesità aiutano a comprendere differenze così notevoli: è probabile, infatti, che in quei paesi le sostanze *obesogene* siano altrettanto diffuse che nel resto del mondo occidentale e non è facile ipotizzare che il microbiota intestinale sia più conservato. Forse l'ipotesi più plausibile rimane quella di una minor alterazione del *programming fetale*: cioè di un *mismatch* (mancata corrispondenza) trascurabile tra la programmazione fetale del tessuto adiposo e le esigenze della vita postnatale. Ma su tutto questo avremo modo di tornare.

Come dicevamo la prevalenza di obesità è aumentata drammaticamente negli ultimi anni anche **in età pediatrica** e anche in questo caso in tutte le fasce di età³⁸⁶. Nel 2004 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha dichiarato ufficialmente che il sovrappeso e l'obesità infantile hanno raggiunto **proporzioni epidemiche** in molti Paesi industrializzati³⁸⁷. La prevalenza dei sovrappeso e obesi in soggetti di 11-13 anni di età varia tra 5% a oltre 25% nei diversi paesi. E nonostante gli sforzi da parte delle organizzazioni internazionali e dei governi nazionali nel promuovere la consapevolezza del problema e sviluppare misure di prevenzione, la prevalenza di sovrappeso infantile continua a crescere. I dati sono preoccupanti in quasi tutti i paesi per i quali sono disponibili dati, con l'eccezione dei bambini in età scolare in Russia e, in misura minore, in Polonia durante gli anni '90 (quelli della crisi economica e sociale successiva al crollo dell'ex Unione Sovietica) e di alcune comunità (specialmente di età prescolare) nei paesi a basso reddito³⁸⁸. Nella maggior parte dei paesi si registra un incremento maggiore di **maschi** sovrappeso rispetto alle femmine.

In **Italia** il fenomeno ha assunto proporzioni particolarmente allarmanti proprio tra i giovanissimi: i bambini dai 6 ai 12 anni presentavano un tasso di obesità del 7% tra il 1976 e il 1980, del 12% tra 1988 e 1994 e del 15% nel 2000. Le regioni in cui il trend di incremento è più netto sono quelle dell'**Italia Meridionale**. I dati più aggiornati del sistema di sorveglianza dell'obesità infantile "*Okkio alla SALUTE*", diffusi dall'Istituto Superiore di Sanità³⁸⁹, hanno rivelato "livelli preoccupanti di eccesso ponderale" con il 22,9% dei bambini in sovrappeso e l'11,1% in condizioni di obesità, ma con spiccata variabilità interregionale, confermando le percentuali tendenzialmente più alte nel Sud (Scheda n..).

In Campania, Puglia e Sicilia la popolazione in sovrappeso arriva al 23.6%, quella obesa al 13.5%. A Napoli si registra un tasso di obesità del 16.6%. La prevalenza di eccesso ponderale tra gli alunni della scuola primaria è pari al 34%, con punte superiori al 40% in alcune regioni del Centro-Sud. Estrapolando le stime all'intera popolazione di alunni della scuola primaria, il numero di bambini in eccesso ponderale sarebbe pari a circa 1 milione e centomila, di cui quasi 400 mila obesi.

Ancora peggiori sono le stime e le proiezioni concernenti i paesi del III mondo. Dato interessante da mettere presumibilmente in relazione con la rapidità delle trasformazioni alimentari e degli stili di vita e quindi con **il mismatch tra la programmazione embrio-fetale e le nuove esigenze poste da un ambiente in rapidissimo cambiamento e, soprattutto, da una nutrizione ipercalorica ricca di grassi e zuccheri ("cibo spazzatura")**.

Un dato soltanto in apparenza secondario, in realtà estremamente indicativo, è quello concernente gli animali domestici, colpiti da obesità in molti paesi. Si tratta infatti di un dato che depone chiaramente per la prevalenza dei fattori esogeni (*nurture*: dieta e stili di vita) rispetto a quelli endogeni (*nature*: genetica). I tassi di sovrappeso nei cani negli Stati Uniti variano dal 23% al 41%, con circa il 5,1% che risulta obeso. I tassi di obesità nei gatti sono leggermente superiori (6,4%). La prevalenza cresce ulteriormente con l'età: quasi il 50% dei cani e dei gatti tra i 5 e 10 anni di età sono in sovrappeso o obesi³⁹⁰. Inoltre il rischio di obesità nei cani è maggiore se i proprietari sono obesi, mentre non si registra una correlazione simile tra i gatti ed i loro padroni. Il rischio di diabete 2 è doppio nel gatto obeso e aumentato di circa 8 volte nel cane³⁹¹.

Rischi connessi all'obesità. Cenni alla pandemia di insulino-resistenza/diabete 2

L'eccellente revisione di Kopelman ha evidenziato molti aspetti dell'obesità che erano stati sottovalutati e ha mostrato come questa rappresenti un problema sanitario di grande rilievo nell'ambito della salute pubblica³⁹².

L'OMS ha dichiarato il sovrappeso come una delle dieci maggiori condizioni di rischio nel mondo e una

delle prime cinque nelle nazioni sviluppate. L'obesità e il sovrappeso hanno infatti molteplici effetti negativi sulla salute, **aumentando il rischio e peggiorando la prognosi di tutta una serie di patologie cronico-degenerative** quali insulino-resistenza³⁹³ e diabete tipo 2³⁹⁴, malattie coronariche, ipertensione, gotta, malattie di fegato e colecisti, asma e problemi polmonari, patologie renali, problemi riproduttivi, osteoartrite e alcune forme di cancro³⁹⁵. Il *Rand Institute* ha calcolato che l'obesità predispone a tali patologie più di indigenza, fumo o alcool³⁹⁶. È stato anche calcolato che l'obesità è responsabile del 5,5-7,8% di tutte le spese per assistenza sanitaria³⁹⁷ e determina la perdita di circa 40 mila giorni di lavoro per anno nei soli USA³⁹⁸.

Questi dati rivestono grande importanza, visto che è ormai ampiamente dimostrato non solo che i bambini obesi sono a rischio di diventare adulti obesi³⁹⁹, ma anche che l'obesità è, come meglio vedremo, il prodotto di una imperfetta programmazione di organi e tessuti nelle prime fasi della vita. È stato calcolato che **oltre il 60% dei bambini che sono in sovrappeso prima della pubertà sarà in sovrappeso in età adulta**: un dato particolarmente preoccupante, che si ricollega al più generale *trend* di anticipazione dell'età di insorgenza delle malattie non trasmissibili (cronico-degenerative), aumentando notevolmente il carico sui servizi sanitari, che dovranno fornire assistenza e trattamenti durante la gran parte della vita di tali soggetti⁴⁰⁰.

La conseguenza più grave della pandemia di obesità, tanto sul piano strettamente bio-medico/individuale, quanto su quello socio-sanitario/collettivo è certamente rappresentata da una **seconda epidemia**, direttamente e strettamente connessa alla prima: quella di **insulino-resistenza (IR)-sindrome metabolica-diabete 2** che si sta diffondendo su tutto il pianeta secondo *trend* di crescita in larga misura sovrapponibili o facilmente collegabili e inducibili da quelli dell'“epidemia madre”⁴⁰¹.

Non potremo trattare in modo approfondito dell'epidemia di insulino-resistenza e *diabesità*⁴⁰²: ci limiteremo ad accennare ad alcuni meccanismi di base necessari per meglio comprendere i collegamenti metabolici tra le due condizioni, tanto più che anche il diabete 2, che **fino a pochi anni fa era di pertinenza dell'età adulta o addirittura senile**, si sta propagando con rapidità preoccupante tra gli **adolescenti e persino tra i bambini** di tutto il mondo⁴⁰³.

Sovrappeso e obesità giovanili sono inoltre fattori di rischio per malattie cardiovascolari⁴⁰⁴ (è stata dimostrata l'associazione con lo sviluppo di lesioni aterosclerotiche precoci⁴⁰⁵) e per diversi disturbi psicologici, in particolare la depressione⁴⁰⁶. Secondo alcuni studi **i bambini in sovrappeso avrebbero un rischio 5 volte maggiore di ridotta qualità della vita per problemi di salute: un rischio simile a quello che si osserva nei bambini affetti da cancro**⁴⁰⁷. E secondo alcuni autori **l'impatto psicologico dell'obesità non è meno devastante delle implicazioni di ambito organico**⁴⁰⁸. Il peso economico dell'obesità infantile, infine, sarebbe già aumentato di 3 volte negli ultimi 20 anni, raggiungendo nei soli Stati Uniti i 127 milioni dollari all'anno⁴⁰⁹.

● Seconda domanda: quali sono le cause di tutto questo?

Stili di vita e abitudini alimentari

L'obesità è patologia sistemica e multi-fattoriale per eccellenza: è stata tradizionalmente considerata il prodotto di un eccessivo apporto di cibo (diete ipercaloriche e ricche di grassi) combinato con uno stile di vita sedentario, su uno *background* di predisposizione genetica. Ma è sempre più evidente che questi tre fattori da soli non possono spiegare l'allarmante incremento dei casi di obesità in tutto il mondo; i *trend* di aumento e la continua anticipazione dell'età di insorgenza delle patologie connesse (in particolare per quanto concerne, come detto, insulino-resistenza e diabete 2); la limitata efficacia delle strategie terapeutiche basate sul ripristino di un'alimentazione e stili di vita più corretti⁴¹⁰.

Vedremo come una conoscenza più approfondita da un lato dei meccanismi centrali e periferici che regolano il funzionamento del tessuto adiposo, dall'altro delle centinaia di molecole di sintesi che possono interferire

sia con il suo sviluppo, che con il suo funzionamento abbia permesso di mettere in luce alcuni dei meccanismi patogenetici che sembrano poter essere all'origine delle pandemie di obesità e diabete ²⁴¹

Anche se non sono molti gli studi che lo documentano in modo esaustivo⁴¹², è comunemente riconosciuto che le società moderne sono caratterizzate da un *modus vivendi* sedentario, che contribuisce notevolmente, già nelle primissime fasi della vita, alla riduzione dell'attività fisica e del dispendio energetico e favorisce l'accumulo di grasso. La **pubertà e il periodo adolescenziale** rappresentano un periodo particolarmente vulnerabile per lo sviluppo di obesità, in concomitanza con le trasformazioni ormonali legate all'accelerazione dell'accrescimento corporeo e alla maturazione sessuale e, in molti individui, ad una ulteriore riduzione dell'attività fisica. A causa dell'elevato rischio che gli adolescenti sovrappeso diventino adulti obesi, l'impegno di bambini e adolescenti in attività fisica e sport è un fattore fondamentale nelle strategie di prevenzione e terapia dell'obesità⁴¹³. Se non si incentiva un'attività appropriata vi è insomma una maggiore probabilità che i bambini vivano una vita meno salutare rispetto a quella dei loro genitori.

È stato in particolare dimostrato che un uso eccessivo della televisione durante l'infanzia e l'adolescenza si associa a sovrappeso, scarsa forma fisica, fumo di sigaretta, elevati livelli di colesterolo in età adulta e altri effetti negativi di lunga durata sulla salute⁴¹⁴. Studi multivariati hanno dimostrato che l'uso quotidiano e protratto di televisione e video giochi favorisce l'obesità. Secondo molti studi trasversali e prospettici esisterebbe una chiara relazione tra il numero delle ore passate davanti alla televisione e l'aumento dei livelli di obesità: e questo negli Stati Uniti ⁴¹⁵, come in Australia⁴¹⁶, in Messico⁴¹⁷, in Thailandia⁴¹⁸, in Grecia⁴¹⁹ o tra i "nativi" canadesi⁴²⁰. Va detto, tuttavia, che anche in questo caso i dati non sono così significativi come ci si potrebbe aspettare e che alcuni studi hanno dimostrato che dopo aggiustamento per le differenze nell'assunzione di cibo e attività fisica, la permanenza davanti al teleschermo cessa di essere un fattore significativamente correlato al BMI: l'effetto sull'obesità potrebbe essere cioè da ricollegare essenzialmente agli altri due fattori di base. In ogni caso appare plausibile che la cattiva abitudine di passare molto tempo alla televisione persista in età adulta: alcuni autori sottolineano l'esigenza di un intervento precoce, sostenendo che gli effetti negativi sarebbero direttamente collegati al precoce esordio di *teledipendenza*⁴²¹.

Per lungo tempo si è del resto pensato che l'obesità fosse essenzialmente un **problema psicologico**, legato a una carente forza di volontà⁴²² e/o ad alterazioni funzionali a carico dei centri ipotalamici di regolazione dell'appetito⁴²³. Questa convinzione si è andata via, via radicando non solo nella coscienza collettiva, ma anche tra medici e ricercatori: anche in quest'ambito si sarebbe, in pratica, affermato una sorta di "*dogma centrale*", secondo cui una carenza di forza di volontà ed errori dietetici e di stili di vita rappresenterebbero il meccanismo basilare della "epidemia" attuale⁴²⁴. La gran parte delle strategie terapeutiche promosse dalle agenzie sanitarie internazionali e nazionali si fondano, di conseguenza, su un simile assunto. E questo nonostante sia sempre più evidente che si tratta di una rappresentazione assai parziale e che la gran parte degli obesi reagisce a qualsiasi forzatura terapeutica sviluppando tutta una serie di problemi di salute che sembrano dimostrare l'esistenza di una **sottostante situazione metabolica**, poco o nulla modificata da dieta e terapie, che non dovrebbe esser sottovalutata.

Già 40 anni fa si vide, ad esempio, che se si cerca di trattare gli obesi con diete fortemente ipocaloriche, i risultati tendono a essere negativi⁴²⁵. In pratica la riduzione del peso si accompagna sempre a depressione, letargia e stati maniacali, a dimostrazione che si tratta di una **condizione psico-neuro-endocrina complessa**; che gli obesi rispondono in maniera diversa alle variazioni di *intake* calorico; che ridurre drasticamente le calorie significa costringere, per così dire, gli obesi a lottare contro la loro stessa natura⁴²⁶. Già allora si indagò sui meccanismi dell'adipogenesi fisiologica e patologica⁴²⁷ e si scoprì: che le diete ipocaloriche forzate ottenevano solo una riduzione del volume degli adipociti, ma non del loro numero; che **il numero degli adipociti è programmato nel corso dello sviluppo embrio-fetale**; che dall'età di 8 anni fino alla fine della pubertà il numero degli adipociti aumenta ancora (fase *iperplastica*) per poi raggiungere un *plateau* che è in genere mantenuto

per tutta la vita⁴²⁸. Quaranta anni dopo gli studi su pazienti sottoposti a chirurgia bariatrica o su malati neoplastici affetti da cachessia hanno confermato tutto questo⁴²⁹.

Eppure, ancora oggi, si tende a colpevolizzare l'obeso o, per quanto concerne l'obesità pediatrica, i suoi familiari. E questo nonostante il fatto che più se ne studiano i meccanismi patogenetici, più si capisce che all'origine dell'obesità (e dell'epidemia di obesità) c'è **una vera e propria “s-programmazione” del tessuto adiposo**⁴³⁰, ormai universalmente riconosciuto come il principale “organo endocrino-metabolico”. All'origine di questa devianza potrebbe esserci, come meglio vedremo, una esposizione precoce (in particolare in epoca embrio-fetale) a interferenti endocrini e ad altre molecole obesogene che altererebbero il normale processo di programmazione epigenetica delle **cellule mesenchimali multipotenti dello stroma perivascolare (periciti)**⁴³¹ condizionandone *commitment* e differenziazione in senso adipogeno (l'incremento degli adipociti ridurrebbe quindi la formazione di osteociti, favorendo l'**osteoporosi**, anch'essa frequente negli obesi)⁴³².

La possibilità di una **s-programmazione precoce aiuta a comprendere la difficoltà di invertire una condizione di obesità stabilizzata**: mentre nei soggetti normali, nei momenti di crescita fisiologica del tessuto adiposo, prevale l'incremento delle dimensioni cellulari, per l'accumulo di trigliceridi (*ipertrofia*), gli obesi avrebbero un **pool di cellule staminali mesenchimali intrinsecamente deviato verso la linea adipocitica** e il loro tessuto adiposo sarebbe caratterizzato da un alto tasso di replicazione e da ipercellularità (*iperplasia*).

Note di fisiopatologia del tessuto adiposo e dell'obesità

Le idee concernenti i meccanismi di regolazione del tessuto adiposo cambiano letteralmente di giorno in giorno. Nuove osservazioni, teorie e dati empirici costringono continuamente endocrinologi, pediatri, immunologi e ricercatori in genere a cambiare le loro convinzioni circa i principali meccanismi di regolazione di adipogenesi e assorbimento e deposito dei grassi. Basti pensare alla recente scoperta della permanenza e del ruolo attivo del **tessuto adiposo bruno** nell'adulto⁴³³ e delle importanti funzioni endocrino-metaboliche e immunologiche svolte dal **tessuto adiposo bianco**, ormai universalmente considerato come un organo unico, diffuso in tutto l'organismo e dotato di importanti mansioni omeostatiche⁴³⁴.

In realtà fin dagli anni 40' si era intuito che il tessuto adiposo costituisse un vero e proprio organo⁴³⁵. Nel corso degli anni '90 lo si cominciò a descrivere come un tessuto endocrino sistemico (**gli adipociti secernono ormoni, molecole segnale e citochine**) regolato da meccanismi di *feedback*. Eppure si continuò a lavorare essenzialmente sui “bilanci energetici” (introito e consumo di calorie), nella convinzione che il ruolo essenziale del tessuto adiposo fosse comunque quello passivo di stoccaggio dell'energia: quando l'introito calorico è maggiore del consumo i trigliceridi verrebbero stoccati nelle cellule adipose; al contrario quando il corpo deve affrontare un eccessivo dispendio energetico, si avrebbe un incremento della lipolisi e gli acidi grassi verrebbero rilasciati dalle cellule adipose. Si pensava che il numero degli adipociti alla nascita rimanesse stabile lungo tutto l'arco della vita e che l'eventuale incremento di peso avvenisse attraverso un incremento delle dimensioni cellulari (*ipertrofia*), piuttosto che attraverso un aumento del numero delle cellule adipose (*iperplasia*) e che, per converso, le perdite di peso fossero la conseguenza di una riduzione delle dimensioni delle cellule adipose, non del loro numero totale⁴³⁶. Solo dopo la scoperta della **leptina**⁴³⁷ e del recettore gamma per gli attivatori dei perossisomi (**PPARg**)⁴³⁸, il principale recettore nucleare implicato nella regolazione dell'adipogenesi, ci si è tornati a concentrare sui meccanismi fisiologici e patologici di regolazione dei circuiti di fame/sazietà e adipogenesi.

I meccanismi **classicamente** riconosciuti come fondamentali nella genesi dell'obesità possono essere riassunti nei termini seguenti. Un eccessivo apporto calorico e un consumo energetico ridotto conducono a un bilancio energetico positivo. Questo determina un incremento della massa adiposa mediante due meccanismi: inizialmente l'energia introdotta e non “bruciata” si accumula sotto forma di trigliceridi negli adipociti esistenti, che aumentano di volume (*ipertrofia*). Solo quando gli adipociti non riescono più a immagazzinare quantità

crescenti di trigliceridi, potrebbe determinarsi la produzione di nuovi adipociti (*iperplasia*)⁴³⁹. Allorché questi meccanismi fisiologici di compenso diventano insufficienti, **le dimensioni degli adipociti aumentano in modo abnorme e si instaura insulino-resistenza**⁴⁴⁰: **secondo alcuni a causa dello stesso accumulo intracellulare di lipidi, secondo altri a causa della flogosi connessa**⁴⁴¹.

Via, via che la ricerca ha trasformato, in particolare nel corso dell'ultimo decennio, la nostra rappresentazione del tessuto adiposo e delle sue mansioni e funzioni, costringendoci a riconoscere in esso il più esteso organo endocrino, in grado di secernere decine di molecole-segnalet e di ormoni, in risposta alle diverse informazioni e alle esigenze dell'organismo e di contribuire in modo significativo alla regolazione della pressione arteriosa, della secrezione di altri ormoni e della coagulazione del sangue⁴⁴² anche i **meccanismi patogenetici fondamentali** all'origine di obesità e diabesità sono stati rivisitati⁴⁴³.

I punti chiave della **nuova rappresentazione** possono essere riassunti in questi termini:

1. il tessuto adiposo svolge importanti funzioni endocrino-metaboliche e immunitarie⁴⁴⁴, oltre che di accumulo di energia;
2. le **adipochine** rilasciate dalle cellule adipose svolgono funzioni utili, a meno che il corpo accumuli troppo grasso, nel qual caso le stesse molecole segnale producono anomalie, contribuendo al progressivo accumulo e alla progressione della malattia⁴⁴⁵;
3. uno stato di **infiammazione cronica sistemica** accompagna l'accumulo di grassi in eccesso⁴⁴⁶ ed è coinvolta nella progressione verso insulino-resistenza⁴⁴⁷ e diabete 2⁴⁴⁸;
4. la localizzazione anatomica dei depositi di grasso esercita effetti importanti sulla salute: è sempre più evidente che l'incremento di **grasso addominale (viscerale)** ha effetti diversi e peggiori rispetto all'incremento di grasso sottocutaneo⁴⁴⁹;
5. sembra ormai assodato che il tessuto adiposo dell'obeso è sempre caratterizzato da un incremento tanto delle dimensioni (*ipertrofia*), che del numero (*iperplasia*) delle cellule, a partenza da un cospicuo *pool* di cellule staminali stromali⁴⁵⁰ [le cellule multipotenti da cui originano gli adipociti sono cellule staminali mesenchimali (*MSCs: mesenchymal stem cells*)⁴⁵¹ e più precisamente **periciti**, cellule stromali perivascolari diffuse in tutto l'organismo⁴⁵²].

Alcuni ricercatori preferiscono considerare il tessuto adiposo come una componente essenziale del **sistema immunitario**, in ragione del ruolo che molte delle adipochine prodotte svolgono nell'ambito della flogosi⁴⁵³. È infatti importante sottolineare come in caso di obesità il tessuto adiposo, ricco di **macrofagi attivati**, secerna tali molecole-segnalet, e **citochine** in genere, in modo e quantità alterata, e come questo contribuisca in modo significativo all'insorgenza delle complicanze⁴⁵⁴: in particolare insulino-resistenza e diabete 2, ma anche problemi cardiovascolari. Il nesso tra obesità, aterosclerosi e altre malattie vascolari risiederebbe nelle funzioni immunitarie degli adipociti⁴⁵⁵.

Gli adipociti ipertrofici sono caratterizzati da una minor sensibilità all'insulina e da un più alto tasso basale di lipolisi⁴⁵⁶. Sembra assodato che un'alimentazione poco corretta possa determinare l'ipertrofia, ma non l'iperplasia (ipercellularità) tipica dell'obesità patologica. Nel soggetto normale infatti, come detto, gli adipociti genererebbero altri adipociti solo quando la loro capacità di accumulare grassi è completamente esaurita⁴⁵⁷ (e tra il numero degli adipociti presenti in una certa sede e le dimensioni degli adipociti stessi ci sarebbe una relazione inversa⁴⁵⁸). Un tessuto adiposo ipercellulare tenderebbe inoltre a captare grassi.

In definitiva nelle obesità patologiche prevale un fenotipo infiammatorio associato a insulino-resistenza sistemica e il tessuto adiposo è caratterizzato da notevole incremento tanto numerico che e di volume degli adipociti; infiltrazione massiva di macrofagi attivati; angiogenesi limitata e conseguente ipossia con induzione di un programma fibrotico⁴⁵⁹.

Ma quali sono le cause di queste trasformazioni metaboliche? Dovrebbe essere evidente, già a questo punto,

che non avrebbe senso porsi questa domanda a prescindere da quella più generale, concernente l'incremento epidemico di obesità e diabesità.

LE CAUSE: DALLA GENETICA ALL'EPIGENETICA

Per quanto concerne il quesito circa il ruolo svolto dai **fattori genetici o epigenetici e ambientali** (e in particolare nutrizionali) nella genesi della pandemia di obesità e diabesità, la risposta sembrerebbe, ancora una volta, immediata: un incremento così rapido non può che essere dovuto a **cause ambientali, nutrizionali (*nurture*)**, essendo **impossibile che in pochi anni l'assetto genetico della nostra specie (*nature*), si sia modificato**. A meno che non si prenda finalmente in seria considerazione quanto detto nel capitolo introduttivo della presente monografia circa la necessità e l'urgenza di adottare un **modello nuovo, fluido, dinamico di genoma**; di dare il giusto valore alla **programmazione epigenetica di organi e tessuti**; di inserire anche questa problematica nell'ambito **della teoria delle origini embrio-fetali delle malattie (DOHAD)**.

Ma andiamo con ordine. La convinzione, tuttora diffusa, che l'obesità sia essenzialmente condizionata da fattori di ordine genetico si basa, ancora una volta, sulla frequente **"familiarità"**; sull'alta correlazione fenotipica tra **gemelli monozigoti**; sul dato di fatto che un certo grado di obesità caratterizza numerose **sindromi genetiche e cromosomiche** (obesità è infatti presente in oltre 40 sindromi "mendeliane" con oltre 50 loci genetici coinvolti)⁴⁶⁰.

Nei primi anni '90, gli anni del "trionfo" della genomica, in cui si pensava di poter trovare il gene o al limite i geni predisponenti per tutte le malattie cronico-degenerative, in vista di una profilassi mirata e/o di una terapia personalizzata (farmacogenomica), si era creduto di poter assegnare un ruolo significativo alle mutazioni a carico di geni codificanti per ormoni e neuropeptidi e loro recettori centrali e periferici implicati nella regolazione dell'intero sistema (fame, sazietà, assunzione, metabolismo e deposito dei nutrienti) per le quali era stato documentato un ruolo causale in alcune (rare) sindromi monogeniche caratterizzate da obesità precoce e grave⁴⁶¹.

Probabilmente il più noto di questi geni, mutato in alcune forme di obesità, è il gene OB⁴⁶², codificante per la **leptina** - una proteina costituita da 167 aminoacidi, secreta dalle cellule del tessuto adiposo, che agisce da molecola segnale e svolge un ruolo chiave nel mantenimento di un peso corporeo stabile (informando l'ipotalamo circa la consistenza dei depositi di grasso e lo stato nutrizionale dell'organismo; inducendo una riduzione nell'assunzione di cibo; aumentando il dispendio energetico dell'organismo): il caso famoso di un bambino affetto da deficit congenito di leptina, trattato con successo mediante iniezioni di leptina umana ricombinante sembrò confermare la fondatezza delle attese⁴⁶³.

Ben presto ci si rese conto però che questa e analoghe mutazioni in geni codificanti per fattori-chiave implicati nelle principali *pathways* di regolazione del sistema, segnalate come possibilmente associate a obesità⁴⁶⁴, rivestono un ruolo del tutto secondario nell'ambito dell'attuale incremento "epidemico"⁴⁶⁵, a conferma del fatto che i difetti genetici "classici" (mutazioni puntiformi, polimorfismi a singolo nucleotide, variazioni del numero di copie) possono spiegare solo una piccola parte della drammatica variazione di incidenza delle malattie cronico-degenerative (multifattoriali per definizione) registrato in pochi decenni⁴⁶⁶.

Come detto a sostegno del ruolo preponderante della genetica anche nell'epidemia di obesità vengono spesso citati studi sui gemelli, nei quali è stata riscontrata una concordanza maggiore tra gemelli monozigoti (0,7-0,9) rispetto ai dizigoti (0,35-0,45) e si è visto che tra i gemelli monozigoti adottati in famiglie diverse il BMI (indice di massa corporea) correla più con quello dei genitori naturali (biologici) che non con quello dei genitori adottivi. Dovrebbe però essere ormai evidente come **tutto ciò non dimostri l'origine genetica dell'obesità o di altre patologie (cfr. quanto detto a proposito dell'autismo), potendo anche attestarne l'origine epige-**

netica, in relazione a una possibile **esposizione gametica ed embrio-fetale a fattori ambientali e nutrizionali**⁴⁶⁷.

Non avrebbe, del resto, alcun senso cercare di spiegare la **transizione epidemiologica del XX secolo** (caratterizzata da un drammatico incremento di malattie croniche non trasmissibili: malattie endocrino-metaboliche ma anche neurodegenerative, immunomediate e tumorali) sulla base di improbabili mutazioni genetiche e di stili di vita poco corretti (che comunque svolgono un ruolo importante nella misura in cui determinano, in un numero rapidamente crescente di soggetti, **trasformazioni stabili** del *setting* epigenetico psico-neuro-endocrino-metabolico e immunitario).

Lo studio dell'**epigenetica** e, in particolare, del modo in cui le informazioni provenienti dall'ambiente (dalla madre, dal microambiente uterino, dalle molecole contenute nel sangue e nei tessuti materni) possano indurre l'**epigenoma embrio-fetale** a trasformarsi, per meglio programmare organi e tessuti ad affrontare le sfide della vita postnatale ha offerto negli ultimi anni, anche in questo campo, chiavi di lettura preziose e forse risolutive per la comprensione della suddetta **trasformazione epidemiologica** in generale e della rapida **diffusione pandemica di obesità e diabeti** in particolare⁴⁶⁸: vediamo in che senso e in che modo.

La teoria del *genotipo risparmiatore*

Negli ultimi decenni è andata maturando in molti studiosi la consapevolezza che i profondi cambiamenti ambientali (in senso lato) indotti dall'uomo almeno a partire dal **neolitico** e in epoca **industriale**, in particolare per ciò che concerne le scelte alimentari e le modalità di trattamento, conservazione e cottura dei cibi, possano essere all'origine di molte situazioni patologiche proprie dell'uomo moderno⁴⁶⁹.

Numerosi studi hanno messo in rilievo come *da un lato* siano radicalmente e repentinamente cambiate le caratteristiche fondamentali della nostra alimentazione rispetto a quella che per milioni di anni è stata la dieta degli "ominidi ancestrali"⁴⁷⁰ (carico glicemico, composizione in acidi grassi, composizione dei macronutrienti, densità dei micronutrienti, equilibrio acido-base, rapporto sodio-potassio e contenuto di fibre ecc.); *dall'altro* si sia venuto a creare una sorta di **gap tra l'assetto biologico e in particolare genetico** ed epigenetico dell'uomo (prodottosi in milioni di anni di lento adattamento) e le informazioni veicolate dalla **dieta**⁴⁷¹.

Il primo a cercare di spiegare in **termini "adattativi" o "disadattivi"** l'incremento di obesità che si era registrato nel secondo dopoguerra fu il genetista americano J. Neel, che elaborò la teoria del ***genotipo risparmiatore*** (*thrifty genes/genotype*), secondo cui nel corso dell'evoluzione umana avrebbero acquisito un ruolo importante alcuni geni (la cui identità, per altro, non fu mai definita), utili per sopravvivere in condizioni nutrizionali avverse, ma che si sarebbero rivelati controproducenti in tempi di vacche grasse⁴⁷².

Neel era partito da una domanda interessante: perché l'**evoluzione** avrebbe favorito o almeno permesso il mantenersi di una condizione metabolica sfavorevole in cui l'obesità è innescata da fattori che inducono una flogosi cronica e l'invio di segnali aberranti a cervello e muscoli?

La sua prima risposta era stata la seguente: per millenni (per milioni di anni in quanto primati) i nostri antenati avevano dovuto vivere in condizioni di incertezza e di frequenti carestie. In tali condizioni si sarebbe appunto selezionato un ***genotipo risparmiatore*** che avrebbe consentito di estrarre dal poco cibo ingerito le calorie necessarie per la sopravvivenza e di ridurre l'utilizzazione del glucosio da parte dei tessuti periferici, determinandovi una condizione di insulino-resistenza potenziale⁴⁷³.

Nei periodi di relativa abbondanza la produzione di specifiche molecole (adipochine) avrebbe agevolato la formazione di depositi di grasso, da utilizzare nei momenti di carestia. Oggi, nelle società "sviluppate" in cui la dieta è generalmente ipercalorica e ricca di grassi, un tale assetto genetico si sarebbe rivelato controproducente, favorendo obesità e insulino-resistenza stabile. Essendo geneticamente programmati per accumulare grasso in tempi di abbondanza di cibo, non c'è da stupirsi se aumentare di peso è per noi facile e perderlo difficile.

La condizione di insulino-resistenza periferica potenziale, selezionatasi per permettere alla specie umana di sopravvivere, sarebbe poi diventata permanente, il che spiegherebbe anche la frequenza del diabete di tipo 2.

La formulazione di Neel era semplicistica e diede vita a un ampio dibattito, che portò a ipotesi spesso astratte e farraginose⁴⁷⁴. Il principale punto debole era che sulla base delle sue argomentazioni la quasi totalità della popolazione, almeno nei paesi più ricchi, avrebbe dovuto essere obesa e diabetica; inoltre non era facile spiegare il recente, progressivo incremento dei casi.

Bisogna però riconoscere che **Neel si era posto la domanda giusta**, una domanda di portata più generale, che alcuni anni dopo, come detto, si sarebbero posti anche i primi fautori di una medicina evoluzionistica⁴⁷⁵ e che andrebbe estesa a tutte le patologie cronico-degenerative, in grande aumento nella seconda metà del XX secolo: **cosa determina il progressivo prevalere di fenotipi stabilmente sfavorevoli nell'ambito della nostra specie e, dato non secondario, di altre specie animali da noi addomesticate, cioè inserite nel contesto socio-culturale (stili di vita, alimentazione ecc..) proprio dell'uomo occidentale moderno.**

● Dal genotipo al fenotipo risparmiatore

In realtà nel 1962 Neel non poteva affrontare correttamente il grande problema che si era posto. Prima di tutto perché mezzo secolo fa non si era ancora evidenziata appieno la *rivoluzione epidemiologica* che caratterizza il nostro tempo. Antibioticoterapia e immunoprofilassi attiva di massa non avevano ancora drasticamente ridotto l'incidenza di quelle patologie acute da cause esogene (infettive e parassitarie) che avevano funestato per millenni la vita umana e condizionato lo sviluppo e l'assetto del nostro ecosistema microbico endogeno e del nostro sistema immunocompetente e non si era verificato il drammatico incremento "speculare" di patologie cronico-degenerative e neoplastiche che avrebbe caratterizzato gli anni di fine millennio. **In particolare la pandemia di obesità e di diabete II che stiamo analizzando era ancora di là da venire: l'obesità era anzi una condizione rara, spesso associata a quadri sindromici e non sempre riconosciuta come patologica.**

Che l'ipotesi del genotipo risparmiatore formulata da Neel non potesse di per sé spiegare l'epidemia di obesità e diabete II è oggi evidente. Ma Neel aveva intuito che, per comprendere l'origine delle malattie croniche, le si deve **inserire in una prospettiva temporale di lungo periodo**. Per Neel i genotipi vantaggiosi in epoche preistoriche erano stati positivamente selezionati nel corso dei millenni, ma si sarebbero rivelati svantaggiosi in un'epoca caratterizzata da diete ipercaloriche e ricche di zuccheri e grassi: il cambiamento culturale e alimentare era stato troppo rapido perché la biologia umana e soprattutto il suo assetto genetico potessero adattarsi.

Ma i meccanismi della trasformazione dovevano essere meglio chiariti. E a questo proposito dobbiamo, ancora una volta, sottolineare come tanto Neel, che gli altri studiosi, che hanno cercato fin qui di inserire il problema delle origini delle **malattie, intese come fenotipi (dis)adattativi, nelle grandi coordinate del pensiero evoluzionistico**, abbiano, inevitabilmente, utilizzato il modello dominante: quello *neodarwinista*, che riconosce nella selezione naturale il fattore chiave dell'intero processo. Solo negli ultimissimi anni alcuni dati sperimentali ed epidemiologici, concernenti la possibile trasmissione transgenerazionale degli effetti obesogeni di alcuni *interferenti endocrini*, hanno spinto i ricercatori a interrogarsi su modalità e forme diverse di eredità e di evoluzione e a prendere in considerazione quel modello *neolamarckiano*, abbandonato da decenni, secondo il quale l'ambiente e soprattutto le trasformazioni repentine di questo, non avrebbero soltanto un ruolo **selettivo** (a posteriori) sulle varianti dotate di maggior *fitness*, ma potrebbero **indurre attivamente** gli organismi a modificarsi per meglio adattarsi. E soltanto le prime conoscenze dei principali meccanismi epigenetici di differenziazione cellulare e, in particolare, di programmazione "adattativa e predittiva" di organi e tessuti in epoca embrio-fetale (***fetal programming***) fornirono le basi "molecolari" per meglio comprendere quanto si stesse verificando nell'ambito della nostra specie.

Nei primi anni '90 venne formulata da Hales e Barker un'ipotesi alternativa o quantomeno complementare a quella di Neel, che negli anni successivi ha trovato numerose conferme, tanto a livello epidemiologico che molecolare: quella del **fenotipo risparmiatore (*thrifty phenotype*)**, secondo cui condizioni critiche embrio-fe-

tali e basso peso alla nascita, seguite da un eccessivo apporto calorico durante la vita postnatale, sarebbero i principali determinanti dell'incremento di patologie cronico-degenerative (cardio-vascolari, endocrino-metaboliche, renali).

È importante comprendere come i due ricercatori inglesi siano arrivati alla formulazione della loro teoria; come spiegassero il fatto che **meccanismi adattativi attuati in epoca embrio-fetale possano rimanere attivi per tutta la vita ed esprimersi in quadri patologici destinati a manifestarsi pienamente dopo decenni**; come si sia andata delineando **l'idea del gap tra programmazione in utero e successivo challenge nutrizionale**.

In realtà l'ipotesi di Hales e Barker va inserita nell'ambito in un percorso iniziato nei primi anni 50-60 e tuttora in via di definizione. Già negli anni '50 si era notato che i figli di donne diabetiche sviluppavano con notevole frequenza una predisposizione al diabete e si era ipotizzato che la causa potesse essere la super-esposizione del feto ad alti livelli di glucosio, che si esprimeva come organomegalia e macrosomia⁴⁷⁶. Nel '60 White aveva dimostrato che i nati da madri diabetiche presentano un'alterata tolleranza al glucosio⁴⁷⁷. Un altro concetto cruciale era poi emerso da studi sperimentali sugli animali⁴⁷⁸: quello delle cosiddette **finestre di esposizione**, specifici momenti della vita embrio-fetale e perinatale caratterizzati da spiccata sensibilità ad agenti tossici o a condizioni di *stress*. Si vide ad esempio che l'esposizione di ratti femmina nelle prime fasi di sviluppo a una singola dose di testosterone poteva indurre alterazioni permanenti dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico e della fertilità in età adulta⁴⁷⁹: un fenomeno che venne definito **imprinting**, un termine preso in prestito dalla psicologia behaviorista⁴⁸⁰ e al quale abbiamo già fatto cenno nel precedente capitolo a proposito di una delle tante teorie sulla genesi in utero dell'autismo.

Negli anni '70 alcuni gruppi di ricerca ipotizzarono che le origini dell'obesità fossero da cercare nelle prime fasi dello sviluppo e in una alterata differenziazione degli adipociti⁴⁸¹. Negli anni '80 **Frienkel** riprese gli studi degli anni '50 concernenti la super-esposizione embrio-fetale a glucosio in madri diabetiche e ipotizzò che questa potesse alterare in modo definitivo il metabolismo e definì la sua ipotesi **"fuel mediated teratogenesis"**⁴⁸². Negli stessi anni si cominciò a indagare sulle notevoli differenze di incidenza di diabete 2 giovanile tra le popolazioni indigene americane e polinesiane rimaste nei paesi di origine e quelle migrate in aree e paesi ad alto sviluppo e, per spiegare il notevole aumento registrato in queste ultime, si ipotizzò che fossero le alterate condizioni del microambiente uterino a causare le alterazioni metaboliche⁴⁸³.

Finalmente negli anni '90 si giunse alla formulazione di teorie in grado di interpretare tutti questi dati.

Nel 1991 **Lukacs** enunciò l'ipotesi, che si sarebbe rivelata assai fertile, del **fetal programming**: cioè di un **aggiustamento genomico adattativo e predittivo in epoca embrio-fetale**⁴⁸⁴. Contemporaneamente Barker e il gruppo di Southampton giunsero alla prima formulazione del **thrifty phenotype** e dell'**origine fetale delle malattie dell'adulto**⁴⁸⁵. Negli anni immediatamente successivi divenne evidente che l'intero periodo dello sviluppo embrio-fetale e perinatale svolge un ruolo chiave nella programmazione di organi e tessuti. E non soltanto del tessuto adiposo o dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico, ma anche del tessuto mammario⁴⁸⁶, del parenchima renale⁴⁸⁷, dell'apparato cardio-circolatorio⁴⁸⁸, dell'apparato respiratorio e del sistema immunocompetente⁴⁸⁹, del SNC⁴⁹⁰. In pratica di tutti i tessuti e gli organi.

Le successive acquisizioni nel campo dell'**epigenetica** avrebbero permesso di dare concretezza molecolare a questi modelli e di elaborare sempre più comprensive teorie sulla origine fetale delle malattie croniche dell'adulto⁴⁹¹. Ma in quegli anni le ipotesi del **fetal programming** e del **thrifty phenotype**, formulate quando i meccanismi epigenetici non erano ancora noti, erano difficilmente verificabili e sollevarono molte polemiche e controversie. In particolare si cercò di dimostrare che all'origine tanto del basso peso alla nascita che del successivo diabete c'erano particolari assetti genetici⁴⁹², nonostante tutti i dati che si andavano accumulando dimostrassero come il DNA, pur rappresentando un fattore importante delle **potenzialità** di crescita del singolo individuo, svolga un ruolo trascurabile nella determinazione del peso alla nascita e dello sviluppo effettivo⁴⁹³.

La particolare frequenza e drammaticità con cui gli adattamenti si verificavano nelle popolazioni native americane e micronesiane esposte a condizioni nutrizionali e di sedentarietà⁴⁹⁴ estremamente diverse da quelle per loro usuali, i *trend* di incremento e le prime proiezioni allarmanti concernenti l'epidemia di obesità, insulino-resistenza e diabete 2⁴⁹⁵ costrinsero i ricercatori a pensare in termini diversi: **tanto i trend globali, quanto la particolare drammaticità del cambiamento nelle popolazioni migranti poteva essere meglio spiegata con una alterata programmazione in utero, o meglio con un *fetal programming* inadeguato ai nuovi stili di vita acquisiti, piuttosto che sulla base di ipotetiche peculiarità genetiche “predisponenti” che vari autori continuavano⁴⁹⁶ e in parte continuano⁴⁹⁷ a ricercare.**

A ulteriore dimostrazione che ambiente e nutrizione hanno un ruolo prevalente rispetto alla genetica *sensu stricto* e che il periodo-chiave della programmazione si estende quantomeno ai primi mesi della vita extrauterina giunsero gli studi di Pettitt sulle popolazioni indigene Piva che mostravano come l'allattamento materno nei primi 2 mesi di vita esercitasse un marcato effetto protettivo nei confronti del diabete 2⁴⁹⁸. Analogo effetto protettivo del latte materno venne segnalato di lì a poco nei confronti dell'obesità⁴⁹⁹

Negli anni immediatamente successivi si andarono chiarendo i meccanismi dell'alterata programmazione precoce della produzione di insulina e della insulino-resistenza⁵⁰⁰. *In primis* si pensò che condizioni di nutrizione insufficiente potessero indurre modifiche adattative dei meccanismi di regolazione, che potrebbero persistere nel corso della vita post-natale⁵⁰¹. Ben presto ci si rese conto che **non soltanto un ridotto peso alla nascita, ma anche un peso eccessivo si associano con alta frequenza ad obesità e diabete**⁵⁰². L'insulina è un importante promotore della crescita in utero e di conseguenza si ipotizzò che alterazioni della sua secrezione e/o insulino-resistenza potessero causare entrambi gli eventi.

Una riprova ulteriore dell'origine ambientale, cioè epigenetica, piuttosto che genetica *sensu stricto*, venne dalla scoperta dell'esistenza di **un fattore uniparentale nella trasmissione del diabete II, che depona per specifiche marcature epigenetiche a carico dell'allele paterno o materno all'origine della scarsa crescita embrio-fetale e del successivo sviluppo delle alterazioni metaboliche**⁵⁰³, un po' sulla falsariga di quanto avviene in alcune sindromi da *imprinting* e in particolare nella già citata sindrome di Prader Willy, caratterizzata da obesità e diabete 2⁵⁰⁴. Anche dagli studi su coppie di gemelli vennero alcune conferme: in particolare si scoprì che il gemello sottopeso (indice di sofferenza prenatale) presentava con maggior frequenza obesità e diabete⁵⁰⁵. Eppure non tutti ancora concordavano sul ruolo chiave delle cause nutrizionali in epoca fetale quali causa sufficiente di obesità e diabete nell'adulto.

Ma la conferma definitiva della correttezza delle ipotesi di Lukas e Barker sulla programmazione in utero e su quello che sarebbe poi stato definita l'ipotesi del *mismatch* programmatico (vedi capitolo introduttivo) giunse, in modo del tutto inatteso, da **due grandi studi epidemiologici.**

● La carestia olandese e quella di Stalingrado

Nel 1974 era comparso sul *New Journal of Medicine* il primo di una serie di studi che avrebbero dato un grande impulso alla ricerca e fornito le prove epidemiologiche della validità della *Barker Hypothesis* e dell'esistenza di una *programmazione metabolica in utero*: vi si descrivevano le conseguenze di lungo periodo di un drammatico episodio verificatosi nei Paesi Bassi nel corso della Seconda Guerra mondiale, anche noto come Fame olandese (*Dutch Famine*)⁵⁰⁶.

Durante l'autunno del 1940 gli alleati avevano cercato inutilmente di liberare i Paesi Bassi occupati dai tedeschi e al fallimento dell'operazione aveva fatto seguito il blocco totale delle importazioni alimentari in tutta la zona. L'inverno era stato durissimo e gran parte della popolazione, comprese le donne incinte e i bambini, fu costretta ad un apporto calorico estremamente ridotto (5-800 calorie/*die*). Grazie alla scrupolosa raccolta di dati da parte di alcuni medici fu possibile studiare, a distanza di decenni, gli effetti che il ridotto apporto di nutrienti nel corso dello sviluppo embrio-fetale aveva determinato nei sopravvissuti. Si scoprì così che gli

effetti dello *stress* nutrizionale si erano spesso rivelati dopo decenni e senza una precisa relazione con il peso alla nascita⁵⁰⁷ ed erano diversi a seconda del periodo nel quale il feto si era trovato esposto⁵⁰⁸: se la restrizione calorica era iniziata nella seconda parte della gravidanza, si avevano alterata tolleranza al glucosio e diabete 2, ma se l'esposizione era stata più precoce seguivano obesità e quadri più complessi di "sindrome metabolica" con alterazioni del profilo lipidico⁵⁰⁹, ipertensione⁵¹⁰, aterosclerosi precoce e patologie cardiovascolari⁵¹¹ e persino disordini della sfera affettiva e schizofrenia⁵¹².

C'è ormai sufficiente accordo sul fatto che queste patologie sono l'effetto tardivo del *fetal programming*, cioè dell'adattamento epigenetico di cellule e tessuti allo *stress* psicologico e nutrizionale (tesi in seguito suffragata dalla segnalazione di effetti transgenerazionali)⁵¹³. Ma come a volte accade nell'ambito della ricerca scientifica, **fu uno studio che sembrava contraddire la sua ipotesi a offrire a Barker l'opportunità per un ulteriore passo in avanti.**

Analizzando la coorte dei sopravvissuti alla fame durante l'assedio di Stalingrado si era notato che l'incidenza delle patologie croniche era stata assai minore che nei Paesi Bassi⁵¹⁴. Nel tentativo di trovare una soluzione all'enigma, Barker si rese conto che le condizioni dei sopravvissuti negli anni immediatamente successivi alle due carestie belliche erano state alquanto differenti: mentre i sopravvissuti alla carestia olandese erano stati apparentemente più fortunati e avevano potuto recuperare rapidamente il peso perduto, i sopravvissuti dell'assedio di Leningrado avevano dovuto sopportare un'infanzia difficile e carente dal punto di vista nutrizionale e paradossalmente proprio questo li aveva preservati dallo sviluppare obesità e insulino-resistenza.

La soluzione era ormai a portata di mano: Barker comprese che i bambini russi, *programmati* per una vita caratterizzata da *stress* e carenze nutrizionali avevano potuto affrontare al meglio la loro difficile vita; i bambini olandesi, programmati allo stesso modo, avevano goduto di una vita postnatale assai migliore e di una dieta assai più ricca del previsto e, pur avendo inizialmente recuperato un buon peso forma, si erano poi ammalati a causa della **non corrispondenza tra programmazione (carenziale, risparmiatrice) e dieta relativamente ricca.**

Le due ipotesi formulate negli anni '90 e tanto contestate – *fetal programming* e *thrifty phenotype* - si dimostravano complementari e sempre più solide⁵¹⁵. Il nuovo concetto che emergeva era quello di *mismatch*: di una possibile, imperfetta corrispondenza non tanto tra il DNA ancestrale di specie e quello moderno (come nell'ipotesi di Neel), ma appunto tra gli ambienti "previsto" e "reale"⁵¹⁶, cioè tra la programmazione (*epigenetica*) in utero (basata sulle informazioni provenienti al feto attraverso la madre e in particolare sulla carenza nutrizionale)⁵¹⁷ e le esigenze del tutto diverse incontrate nella vita postnatale⁵¹⁸.

Ed è anche degno di nota che **il *mismatch* tra programmazione fetale e "vita reale" è sempre più marcato per le popolazioni migranti, per quelle dei paesi del III mondo e per le fasce più disagiate del I e del II mondo**, caratterizzate da basso peso alla nascita e da gravi carenze nutrizionali nella primissima infanzia, ma anche da consumo di cibo spazzatura, ricco di zuccheri semplici e grassi e da possibilità di movimento sempre più ridotte. È evidente che un tale *mismatch* potrebbe rappresentare una delle cause principali dell'enorme aumento di obesità infantile e adolescenziale, praticamente triplicate negli USA negli ultimi 30 anni.

E in un certo senso anche le ipotesi di Neel (*thrifty genotype*) e di Barker (*thrifty phenotype*) appaiono complementari, piuttosto che alternative. È fuor di dubbio che l'assetto genetico di una specie non può mutare radicalmente in pochi decenni, ma è plausibile che gli assetti genomici più adattabili a situazioni di apporto nutrizionale mutevole siano stati positivamente selezionati nei millenni. È d'altronde evidente che quel che sta succedendo in tutto il mondo, in pochi anni e con particolare drammaticità nei soggetti in cui la trasformazione degli stili di vita (nutrizione ipercalorica, sedentarietà) è stata particolarmente radicale e rapida, **non può essere spiegato neo-darwinisticamente in termini di selezione dei soggetti geneticamente più adatti, ma piuttosto in chiave neolamarkiana/evo-devo ed epigenetica: nel senso che una programmazione fetale "risparmiatrice" del software (*thrifty epigenotype*), reattiva a vari tipi di *stress*, pur determinando una**

scarsa adattabilità del soggetto alle successive condizioni di vita “opulente”, tenderebbe ugualmente a diffondersi e a prevalere a causa di meccanismi al tempo stesso induttivi e selettivi del tutto diversi da quelli “naturalisti”.

E ancora: l'ipotesi di Neel è valida nel lungo periodo e può in parte spiegare l'incremento di incidenza di casi di obesità e diabete II del secondo dopoguerra; quella di Hales e Barker e più in generale la *teoria delle origini fetali delle malattie cronico-degenerative (DOHA)* sono valide anche nel breve periodo e spiegano meglio l'epidemia recentissima e rapidamente progressiva di obesità e diabete 2.

Tutto chiarito dunque? Evidentemente no. Tutto quello che abbiamo detto fin qui vale essenzialmente per i bambini nati sotto peso e in generale per quelli che hanno sofferto condizioni di *stress* nella primissime fasi della loro vita, **mentre è evidente che oggi le condizioni nutrizionali, almeno nel Nord del mondo, sono ben diverse da quelle carenziali analizzate da Barker** e dagli epidemiologi che hanno studiato le coorti dei sopravvissuti alla *Dutch Famine* e all'assedio di Stalingrado: **la gran parte delle donne sono sovrappeso e la loro nutrizione è eccessiva e spesso incongrua (iper calorica, iperglicidica e ricca di grassi pro-infiammatori) anche in corso di gravidanza.** E oggi sappiamo che anche il peso eccessivo alla nascita rappresenta un fattore significativo di rischio di obesità in età adulta, come dimostrano le tipiche curve a U, con tassi elevati ai due estremi della curva di distribuzione, che troviamo negli studi epidemiologici che analizzano la relazione tra peso alla nascita e rischio di obesità e diabete⁵¹⁹.

Ci troviamo, evidentemente, di fronte a due diverse condizioni patogenetiche, complementari se non opposte. Se per i neonati **SGA** rimane valida l'ipotesi del *Thrifty phenotype* e del *mismatch* tra programmazione carenziale e apporto nutrizionale durante la vita post natale, per i neonati **macrosomici** da obesità materna in gravidanza e/o da apporto nutrizionale eccessivo, i meccanismi devono essere alquanto diversi.

Tra i vari meccanismi ipotizzati e sperimentalmente confermati appare evidente il ruolo-chiave svolto dall'**iperglicemia materno-fetale** (a prescindere dal tipo di patologia materna – diabete 1 o 2 – che l'abbia provocata) e la conseguente **iperinsulinemia** (l'insulina essendo l'ormone anabolico per eccellenza). La conseguente **iperfunzionalità pancreatica**, già presente durante la vita fetale e nei primi anni di vita postnatale, potrebbe rappresentare, a partire dalle ricerche condotte a partire dai primi anni '70 da Günter Dörner e Andreas Plagemann presso l'Istituto di Endocrinologia sperimentale di Berlino, **un fattore predisponente tanto a processi autoimmuni e al precoce esaurimento delle isole (quindi al diabete 1), quanto a insulino-resistenza periferica (quindi al diabete 2)**⁵²⁰.

Gli aspetti forse più interessanti di questi studi, che non potremo approfondire in questa sede, riguardano **gli effetti della iperglicemia-iperinsulinemia perinatale sul cervello immaturo e, in particolare, sull'ipotalamo, l'organo regolatore dell'intero sistema**, nel quale verrebbe a prodursi una **displasia permanente del nucleo ipotalamico ventro-mediale (e quindi del centro della sazietà) che tenderebbe a persistere per tutta la vita**⁵²¹: alla conseguente resistenza nei confronti dei segnali periferici (leptina, insulina) potrebbe associarsi una disorganizzazione persistente delle reti neuronali del nucleo arcuato, con ipersecrezione persistente di peptidi orexigeni e riduzione funzionale dei neuroni anoressigeni,⁵²² tendenza a obesità, insulino-resistenza, iperfagia e diabete.

Su queste basi Dörner e collaboratori sono giunti a sostenere che **l'iperinsulinismo fetale indotto dall'iperglicemia materna ha potenzialità teratogene**, predisponendo a obesità e diabete la prole e le generazioni successive e che sarebbe necessario ed urgente monitorare le donne in gravidanza per quanto concerne incremento di peso e tolleranza del glucosio.

Altrettanto importanti e determinanti sono **le alterazioni del metabolismo lipidico e, in particolare l'incremento dei trigliceridi durante la gravidanza**⁵²³: l'esposizione ad un eccesso di grassi (in specie di acidi grassi saturi) determina infatti nel feto, un'ulteriore **attivazione delle pathways infiammatorie, condizionando l'intero metabolismo, il funzionamento dei mitocondri e i programmi differenziativi e proliferativi dei**

vari organi e tessuti. Essendo i lipidi tanto molecole segnale, che attivatori trascrizionali è l'intera regolazione dei geni implicati nella programmazione del metabolismo lipidico e dei meccanismi di *feedback* dei circuiti fame/sazietà ad essere influenzata⁵²⁴.

È noto, del resto, che l'obesità in gravidanza rappresenta un fattore di rischio anche a prescindere da concomitanti alterazioni del metabolismo glucidico e lipidico: una donna sovrappeso avrebbe comunque il doppio di probabilità di partorire un bambino macrosomico⁵²⁵. Anche perché **l'obesità determina di per sé una condizione di infiammazione subacuta di basso grado⁵²⁶, con incremento di citochine e insulino-resistenza⁵²⁷. E, d'altro canto, la gravidanza rappresenta di per sé un fattore diabetogeno**: l'insulino-resistenza aumenta infatti in gravidanza del 40-50%⁵²⁸, probabilmente a causa di fattori placentari, ma anche per l'aumento delle citochine e in particolare del TNF- α , che sembra interferire direttamente sulla formazione del recettore insulinico⁵²⁹.

Queste è oggi la situazione, almeno nel **Nord del pianeta, dove l'incremento di donne sovrappeso è costante e progressivo**; dove gli **eccessi nutrizionali durante la gravidanza** sono estremamente diffusi e il peso dei bambini alla nascita cresce continuamente⁵³⁰; dove **le cause di flogosi subacuta generalizzata sono sempre più diffuse⁵³¹** e contribuiscono a creare un vero e proprio **circolo vizioso⁵³²**.

GLI ULTIMI TASSELLI D'UN PUZZLE COMPLESSO: GLI INQUINANTI "OBESOGENI E DIABETOGENI" E LE ALTERAZIONI DEL MICROBIOTA INTESTINALE.

A questo punto il "puzzle" sembra delinearsi con sufficiente chiarezza, ma per completare il quadro mancano ancora due importantissimi tasselli: i cosiddetti **agenti obesogeni**, per la gran parte appartenenti alla grande categoria degli **interferenti endocrini**, molecole di sintesi che l'uomo ha disperso negli ultimi decenni in tutta la biosfera e che sembrerebbero poter agire da induttori della "**s-programmazione epigenetica**" che rappresenta uno dei meccanismi di base della rivoluzione epidemiologica in atto e, in particolare, della pandemia di obesità e diabesità; la progressiva alterazione del nostro **ecosistema microbico** intestinale, il cui ruolo di regolare endocrini-immuno-metabolico è stato di recente ben documentato dalla ricerca.

Torneremo a trattare degli interferenti endocrini nel prossimo capitolo, limitandoci, per il momento, a trattare del loro possibile ruolo nell'ambito della pandemia di obesità e diabesità. Non potremo trattare, invece, per esteso la tematica, veramente complessa, delle alterazioni del nostro ecosistema microbico endogeno: dovremo limitarci a un breve *pro-memoria* in appendice al capitolo

Nel 2002, Paula Baillie-Hamilton, notando la **coincidenza temporale** tra l'inizio dell'epidemia di obesità e la diffusione planetaria di un gran numero di nuovi prodotti chimici industriali nel corso degli ultimi 40 anni, ipotizzò che tutta una serie di *interferenti endocrini* (pesticidi organofosfati, bifenili policlorurati e polibromurati, ftalati, bisfenolo A, metalli pesanti e solventi) potessero aver svolto un ruolo importante in questo ambito⁵³³.

Nel 2006 Grun e Blumberg formularono l'**ipotesi obesogena⁵³⁴**, secondo cui l'epidemia di obesità sarebbe, almeno in parte, una conseguenza della diffusione in ambiente (e soprattutto nell'ambito delle catene alimentari) di molecole *xenobiotiche* in grado di agire appunto da *interferenti endocrini*, essenzialmente durante la fase di programmazione fetale e con vari meccanismi⁵³⁵: promuovendo l'*iperplasia* del *pool* adipocitico (fattore chiave, visto che, come detto, sembra accertato che le dimensioni del *pool* di adipociti programmate *in utero*, rimangano tali per tutta la vita); facilitando percorsi adipogenici che attivano la suddetta *iperplasia* nei periodi di maggior sviluppo fisiologico; perturbando l'omeostasi lipidica (*shiftando* il bilancio energetico verso l'accumulo di grassi); interferendo con i meccanismi di *feedback* dei circuiti dell'appetito e della sazietà⁵³⁶.

I principali meccanismi molecolari utilizzati dagli **obesogeni** comprendono: l'interferenza con l'azione dei sensori metabolici (in pratica gli obesogeni *mimerebbero* i ligandi che agiscono tanto bloccando che attivando

i recettori ormonali); la disregolazione della sintesi degli steroidi, che provoca un'alterazione del controllo dell'equilibrio lipidico; cambiamenti nel processo di integrazione centrale dei segnali del bilancio energetico (regolazione dei centri ipotalamici dell'appetito e della sazietà) e riprogrammazione dei *setpoint* metabolici⁵³⁷.

In oltre venti anni di ricerca sono state identificate molte sostanze in grado di agire da “obesogeni”, dapprima in studi sperimentali su animali, in seguito anche nell'uomo: estrogeni come il DES (dietilstilbestrolo) e la genisteina⁵³⁸; organotine come tributiltina, tributilstagno-TBT, trifenilstagno-TPT⁵³⁹; perfluorooctanoati⁵⁴⁰; nonilfenolo; bisfenolo A⁵⁴¹; farmaci anti-psicotici e anti depressivi⁵⁴²; antidiabetici orali (spesso con azione diretta sul recettore per gli attivatori dei perossisomi (PPAR α), che è, come detto, il principale regolatore dell'adipogenesi)⁵⁴³.

Una molecola dotata di attività endocrino-mimetica tra le più studiate e recentemente assunta a grande notorietà, è il **bisfenolo A**: essenzialmente a causa della sua presenza nei biberon e più in generale nei contenitori di plastica per gli alimenti infantili. **Molti studi ne hanno documentato l'attività obesogena⁵⁴⁴ e predisponente alla sindrome metabolica⁵⁴⁵; alcuni autori hanno proposto questa molecola come una delle maggiori candidate al ruolo di fattore-chiave nella genesi della pandemia di obesità⁵⁴⁶; altri non sembrano altrettanto convinti⁵⁴⁷.**

Dopo lunghe polemiche e controversie scientifiche e legali⁵⁴⁸, il 25/11/2010 l'Europa ha messo al bando i biberon con *bisfenolo*. La decisione è stata presa dai rappresentanti dei 27 paesi Ue che, a maggioranza qualificata, dopo un lungo negoziato hanno deciso di proibire la produzione di biberon con *bisfenolo A* a partire dal marzo 2011 e la loro commercializzazione e importazione a partire dal 1 giugno 2011.

Anche alcuni studi epidemiologici hanno collegato l'incremento di obesità alla diffusione di sostanze xonobiotiche (DES, esaclorobenzene, PCB, DDE e altri inquinanti organici persistenti dosati nei cordoni ombelicali⁵⁴⁹, ftalati e loro metaboliti nelle urine⁵⁵⁰). Ovviamente gli studi epidemiologici possono soltanto proporre una correlazione tra diffusione delle sostanze in oggetto ed aumento dei casi. È questo il motivo per cui gli studi sperimentali sugli animali risultano fondamentali per approfondire i meccanismi: è stato ad esempio dimostrato che gli ftalati attivano direttamente il recettore nucleare **PPAR α** ⁵⁵¹.

Studi sperimentali su topi e/o ratti hanno dimostrato che gli effetti dell'esposizione agli *interferenti endocrini* variano in relazione alla dose, al momento e alla durata complessiva dell'esposizione. Il meccanismo più significativo è rappresentato dalla possibile interferenza con la **programmazione epigenetica di organi e tessuti**: se nei soggetti adulti l'alterazione dei normali meccanismi di *feedback* metabolico e, in particolare, l'alterazione a carico dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrenalico possono avere un ruolo obesogeno importante⁵⁵², è sulle cellule ancora plastiche, in via di differenziazione che queste sostanze esercitano gli effetti più significativi e duraturi, “**s-programmando**” il tessuto adiposo (in particolare incrementando il *pool* adipocitico) e gli altri tessuti coinvolti nella regolazione metabolico-energetica e interferendo per tutta la vita sul bilancio energetico⁵⁵³.

E alcuni studi recenti hanno chiarito il ruolo della “**s-programmazione epigenetica**” di **alcuni specifici geni che sarebbe all'origine dell'obesità**: i geni coinvolti nella definizione dei *pattern* di differenziamento degli adipociti (Hoxa5, Gpc4 e Tbx15) e/o nella loro distribuzione nei diversi organi e tessuti (Thbd, Nr2f1 e SFRP2)⁵⁵⁴. Particolari marcature a carico di tali geni sarebbero all'origine delle modalità improprie di sviluppo del tessuto adiposo, in modo simile a quanto accade nell'ambito dell'ematopoiesi e dei processi di differenziamento delle altre linee cellulari⁵⁵⁵.

Se l'esposizione, nel corso del periodo dello sviluppo embrio-fetale, a piccole dosi quotidiane di interferenti endocrini (EDCs) può modificare l'assetto epigenetico dei geni coinvolti nella programmazione

degli adipociti e della distribuzione del grasso corporeo, la probabilità che la sempre più capillare diffusione (e biomagnificazione) di queste molecole nelle catene alimentari, il loro bioaccumulo nei tessuti adiposo ed osseo delle donne, la loro trasmissione all’embrione e al feto svolgano un **ruolo-chiave nell’epidemia di obesità**⁵⁵⁶ e **persino nell’incremento dei tumori a questa associati**⁵⁵⁷ appare un’ipotesi tutt’altro che infondata.

L’esposizione fetale protratta a piccole dosi di “obesogeni” modificherà l’assetto epigenetico delle cellule staminali multipotenti, “polarizzandole”, indirizzandole preferenzialmente verso la linea cellulare degli adipociti a scapito del tessuto osseo e si tradurrà in un incremento stabile del *pool* degli adipociti e in una perenne difficoltà nel mantenere una massa corporea entro i limiti della norma⁵⁵⁸. **Questo potrebbe veramente essere il meccanismo essenziale, se è vero che il numero degli adipociti, programmato nelle prime fasi della vita intrauterina, tende a rimanere stabile per il resto dell’esistenza**⁵⁵⁹: una dieta incongrua ed errati stili di vita possono al limite portare ad un incremento del volume cellulare (*ipertrofia*), che comunque non produrrà mai conseguenze altrettanto devastanti di un’*iperplasia* programmata.

Un dato particolarmente allarmante è quello dei possibili effetti transgenerazionali degli interferenti endocrini, un rischio che ha cominciato a delinarsi dopo che gli studi sperimentali su topine gravide esposte al fungicida *vinclozolina*, hanno documentato la **possibile trasmissione transgenerazionale di marcature epigenetiche specifiche a carico dei gameti e i conseguenti effetti negativi - sterilità, alterazioni comportamentali e obesità - per almeno 3 generazioni, nella progenie maschile**⁵⁶⁰. La stessa frequenza e riproducibilità sperimentale di questi fenotipi patologici indotti suggerisce che il meccanismo in atto sia di tipo epigenetico, piuttosto che genetico, cioè da mutazioni “stocastiche” della sequenza base del DNA⁵⁶¹.

La possibile **trasmissione transgenerazionale degli effetti obesogeni e diabetogeni** era stata, del resto, dapprima sospettata⁵⁶² e poi confermata⁵⁶³ anche in ambito umano sulla base di studi epidemiologici “rivoluzionari”, che avevano dimostrato come un’alimentazione ipercalorica durante la pubertà potesse avere notevoli effetti sulla salute dei discendenti dello stesso sesso, determinando in essi un notevole incremento di rischio per malattie cardiovascolari e diabete. In pratica questi studi hanno dimostrato che il periodo immediatamente precedente il picco di crescita puberale rappresenta un **periodo-critico nel quale gli eccessi nutrizionali potrebbero indurre nei gameti, a carico di geni fondamentali per la programmazione dei tessuti-chiave in ambito metabolico, le marcature epigenetiche specifiche e trasmissibili da una generazione all’altra** in grado di determinare un notevole incremento di obesità, diabete 2 e patologie cardiovascolari nei discendenti dello stesso sesso (il che avvalora ulteriormente l’ipotesi della trasmissione gametica di marcature epigenetiche).

Tutto sembra ri-collegarsi quindi e ricomporsi nell’ambito di un unico grande quadro, secondo cui la drammatica trasformazione dell’ambiente operata dall’uomo in pochi decenni e in particolare la diffusione in ambiente e catene alimentari di molecole artificiali in grado di interferire con i meccanismi epigenetici di programmazione embrio-fetale di organi e tessuti sarebbero all’origine di una vera e propria “rivoluzione epidemiologica” caratterizzata da un rapido incremento e dalla manifestazione in età sempre più precoce di numerose patologie cronico-degenerative e in particolare dalla pandemia di obesità e diabete 2.

APPENDICE AL CAPITOLO 12

UN CENNO AL POSSIBILE RUOLO DEL MICROBIOTA INTESTINALE

Quello del ruolo svolto dall’ecosistema microbico endogeno e delle possibili conseguenze della sua rapida trasformazione dovuta a vari fattori ambientali (primo fra tutti la diffusione sempre più capillare nelle catene alimentari e in tutta la biosfera di molecole intenzionalmente o accidentalmente microbiocide) è un campo di ricerca che nell’ultimo decennio ha conosciuto uno sviluppo impressionante⁵⁶⁴ e fornito conoscenze talmente nuove da rivoluzionare persino il modo di concepire noi stessi e il nostro ruolo nell’ambito della biosfera e nel

processo bio-evolutivo⁵⁶⁵.

È importante ricordare, come l'**ecosistema microbico endogeno**, costituisca la gran parte del nostro "patrimonio cellulare". Sappiamo infatti da oltre 30 anni⁵⁶⁶ che il rapporto tra microrganismi e cellule *self* è, nel nostro organismo, di circa 10:1; che queste cellule *non self* compongono un ecosistema estremamente diversificato, composto da oltre 1000 specie diverse, disseminate in diverse *nicchie* (cute, mucose bronchiale, vaginale e soprattutto gastroenterica essendo le più importanti); che ogni essere umano ha un suo proprio specifico ecosistema microbico (diverso persino tra gemelli monozigoti), ma che, al contempo, la composizione microbica delle diverse "nicchie" varia poco da un individuo all'altro⁵⁶⁷ e che questa composizione microbica "distrettuale" cambia fisiologicamente (e ancora di più in condizioni patologiche) nel corso della vita; che se tale micro-biodiversità è impressionante, tanto più lo è l'enorme preponderanza del materiale genetico microbico e delle molecole proteiche da questo espresse e circolanti attraverso i tessuti e gli organi che compongono il nostro organismo (basta ricordare che i geni microbici fin qui censiti nel nostro intestino sono circa 3,3 milioni e che il rapporto tra sequenze geniche microbiche e umane è di 150:1); che questi microrganismi *simbionti* svolgono un ruolo fondamentale non solo nell'ambito delle nostre funzioni metaboliche e digestive (come è noto da tempo), ma anche nell'ambito del nostro sistema immunocompetente, persino nella più o meno corretta maturazione di questo.

Altrettanto importante è ricordare che questi nostri *partner* microbici sono **co-evoluti con noi**, instaurando con noi rapporti simbiotici, cioè reciprocamente vantaggiosi, in particolare proprio per ciò che concerne la **condivisione dei nutrienti**: un aspetto fondamentale di questo rapporto riguarda infatti la trasformazione di vari componenti nutritivi della dieta da parte del microbiota e la deposizione dell'energia estratta nei depositi di grasso. **Inquadrando la tematica in ambito evolutivo, torna a galla il modello proposto da Neel mezzo secolo fa**: la collaborazione fornita da alcuni microbi simbionti per immagazzinare l'energia estratta dai cibi potrebbe essere stata importante in periodi in cui l'accesso al cibo era ancora incerto e variabile, ma un tale beneficio si sarebbe trasformato in danno nelle nostre società moderne e sviluppate, caratterizzate da facile accesso al cibo e, soprattutto, da diete ad alto contenuto calorico⁵⁶⁸.

Da circa un decennio è nota l'associazione tra dismicrobismo intestinale patologie infiammatorie croniche del colon⁵⁶⁹, colon irritabile e obesità⁵⁷⁰, anche se è ancora aperto il dibattito circa il suo ruolo primario (patogenetico) o secondario (concomitante) nella genesi di queste patologie⁵⁷¹, sempre più diffuse. È stato addirittura ipotizzato che alcuni batteri da noi reputati patogeni e combattuti, primo fra tutti ***Helicobacter Pylori***, potrebbero aver svolto lungamente un ruolo fondamentale proprio nell'ambito del controllo dei circuiti di fame, sazietà e assorbimento del cibo. *Helicobacter Pylori* avrebbe anzi colonizzato i nostri antecessori, molto prima che *Homo sapiens* facesse la sua comparsa⁵⁷². La lunga persistenza (oltre 100mila anni) di *Helicobacter* da simbionte nel nostro stomaco sarebbe infatti spiegabile solo con un suo ruolo attivo di controllo dell'appetito e dell'assunzione di cibo (mediante il controllo della secrezione di leptina e grelina) e di difesa da malattie diarroiche. La sua rapida scomparsa negli ultimi decenni nel Nord del mondo, legata all'abuso di antibiotici (in genere finalizzati proprio alla sua eradicazione, per la profilassi dell'ulcera peptica e del CA gastrico), potrebbe essere un cofattore dell'epidemia di obesità⁵⁷³.

Il che dimostra, ancora una volta, come persino interventi sanitari apparentemente necessari e che hanno contribuito a ridurre significativamente la prevalenza di patologie che avevano un impatto pesante sulla nostra salute, non siano prive di effetti collaterali anche rilevanti, che andrebbero valutati in un ambito collettivo e, ancora una volta, bio-evolutivo (di specie).

CAPITOLO 13

IL CASO DEGLI INTERFERENTI ENDOCRINI: UNA BREVE STORIA DRAMMATICA

Tra gli agenti inquinanti più pericolosi possiamo ricordare gli interferenti endocrini: molecole di sintesi sempre più diffuse in ambiente e catene alimentari che possono interferire con l'azione di ormoni, neurotrasmettitori e molecole segnale che regolano il nostro metabolismo e il funzionamento dei sistemi nervoso, endocrino, immunitario. Sostanze come il bisfenolo A, che è stato utilizzato a lungo come plastificante persino nei biberon e in altri contenitori per alimenti, pesticidi utilizzati in agricoltura e presenti nei cibi, metalli pesanti che si accumulano per anni nei tessuti materni possono in tal modo interferire sullo sviluppo e il funzionamento di organi e apparati. Ma il dato più preoccupante, per quanto concerne tali sostanze è che esse esplicano la loro massima attività nelle primissime fasi dell'ontogenesi embrio-fetale. L'intero sviluppo embriofetale è regolato da molecole segnale, i cosiddetti morfogeni, che modulano la realizzazione del programma genetico ed epigenetico. Mimando o integrando in vario modo con l'azione di tali molecole-segnaie, i distruttori endocrini possono interferire su tutte le tappe della differenziazione cellulare e della programmazione epigenetica di organi e tessuti.

Esattamente 50 anni fa, nel 1962, Rachel Carson scrisse uno dei libri più profetici (e più denigrati) del nostro tempo: *Silent Spring (Primavera Silenziosa)*⁵⁷⁴, nel (vano) tentativo di avvertire l'umanità di una nuova, immensa minaccia che la sovrastava: l'inquinamento ambientale, che cominciava proprio allora a dare i suoi primi frutti di morte. Il libro era dedicato ad Albert Schweitzer, che aveva scritto "*L'uomo ha perduto la capacità di prevenire e prevedere. Andrà a finire che distruggerà la Terra*". Il titolo, fortemente evocativo, alludeva al **silenzio che caratterizzava, già allora, i territori trattati con insetticidi e pesticidi**, che avevano decimato gli uccelli canori.

Il libro divenne subito una sorta di "manifesto" del nascente movimento ambientalista: pochi anni prima, nel 1956 in Giappone una fabbrica aveva rilasciato mercurio nella baia di Minamata e decine di bambini erano nati con gravi malformazioni a carico del Sistema Nervoso Centrale⁵⁷⁵. Nel 1958 un medico americano aveva parlato per la prima volta di un "**ciclo artificiale degli estrogeni**" che aveva affiancato i cicli geochimici naturali che da miliardi di anni mantengono il flusso della vita⁵⁷⁶.

Nel 1968 il Giappone fu teatro di un secondo "avvelenamento di massa": una notevole quantità di "olio di riso" venne contaminata da interferenti endocrini - policlorobifenili (PCBs) e policlorodibenzofurani (PCDFs) – e commercializzato. Circa duemila persone manifestarono una reazione tossica subacuta (*Yusho disease*)⁵⁷⁷, caratterizzata da lesioni oculari e cutanee, irregolarità mestruali e alterazioni immunitarie, ma dagli studi che proseguirono per decenni, anche in seguito a situazioni consimili verificatesi a Taiwan (*Yu-Cheng disease*) e negli Stati Uniti in seguito al consumo di pesce inquinato con PCBs proveniente dai grandi laghi, **si capì che i problemi più seri concernevano i bambini esposti nelle primissime fasi della vita e sarebbero emersi dopo molto tempo**⁵⁷⁸.

Dal luglio del 1976 e per decenni fu il disastro di **Seveso** a fornire le informazioni in assoluto più importanti sulle potenzialità tossiche a breve, medio⁵⁷⁹ e lungo termine⁵⁸⁰ di diossine e interferenti endocrini. Oggi, a mez-

zo secolo dall'uscita di *Silent Spring*, sarebbe difficile negare che l'allarme lanciato da Rachel Carson fosse fondato e sia stato lungamente sottovalutato. E che la presenza nelle catene alimentari e in tutta la biosfera di migliaia di molecole dotate di attività endocrino-mimetica o comunque in grado di interferire a vario livello sul metabolismo umano - molecole di sintesi (ftalati, bisfenolo A) o prodotte da processi industriali o dalla pratica incongrua di bruciare rifiuti (diossine) - è responsabile di innumerevoli problemi di salute che colpiscono la nostra ed altre specie.

È infatti sempre più probabile che non solo una cospicua percentuale delle **malformazioni genitali, dei disturbi della sfera riproduttiva e dei problemi della sfera endocrina**, in continuo aumento nel mondo, ma persino, come abbiamo visto nel capitolo precedente, le due grandi "pandemie" di obesità e diabete I e II che colpiscono milioni di bambini e adolescenti in tutto il mondo e rischiano di mettere in crisi gli stessi sistemi socio-sanitari siano la conseguenza di una sorta di **"s-programmazione" dei loro sistemi endocrino metabolici (cioè dei centri di controllo di fame e sazietà e dei tessuti periferici – muscoli e tessuto adiposo – che non riescono a utilizzare correttamente l'energia introdotta col cibo) almeno in parte dovuta alla diffusione in biosfera e catene alimentari di tali sostanze**⁵⁸¹. La rivoluzione "petrolchimica" che ha trasformato la nostra vita nel secondo dopoguerra sembra stia presentando il conto⁵⁸².

Nei primi anni 90, Theo Colborn, Friedrich Vom Saal e Ana Soto avevano del resto già tradotto i suaccennati allarmi in una teoria articolata, secondo cui, appunto, all'origine dei sempre più drammatici segni di alterazione dei sistemi ormonali e degli apparati riproduttivi degli organismi superiori, c'era la dispersione in ambiente di molecole in grado di interferire a vario livello: tanto sulla bio-sintesi degli ormoni, che sui meccanismi di *feed-back*, che sui meccanismi recettoriali⁵⁸³. Particolarmente importante fu la scoperta che **l'azione di queste sostanze è massima nelle primissime fasi dell'ontogenesi embrio-fetale, proprio in ragione della loro capacità di interferire sulla programmazione delle pathways di segnalazione neuro-endocrina**⁵⁸⁴.

Nel 1997 l'**Environmental Protection Agency (EPA)** definì tali sostanze con il termine di interferenti o distruttori endocrini (EDCs-Endocrine Disruptor Chemicals): agenti chimici **in grado di interferire con la produzione, il rilascio, il trasporto, il metabolismo, i legami, l'azione, l'eliminazione degli ormoni naturali responsabili del mantenimento dell'omeostasi, delle funzioni riproduttive, dello sviluppo e del comportamento**⁵⁸⁵. Ben presto si capì che, come gli ormoni sono in grado di agire in **concentrazioni minimali** (in ragione della specificità del loro meccanismo di attivazione recettoriale), così queste sostanze, presenti in tutti gli ambiti dell'ecosfera, possono, in quantità minime, produrre effetti gravissimi mimando o bloccando l'azione degli ormoni e, più in generale, di decine di **molecole segnale**.

Nel giro di pochi anni fu evidente che gli **studi tossicologici non potevano più basarsi sulla classica regola della "dose che fa il veleno"**, visto che piccole quantità di tali sostanze possono causare danni enormi e che spesso **non vi è correlazione tra dose ed effetti**. Un caso emblematico è, in tal senso, quello del dietilesilftalato (DEHP) che a bassi dosaggi (10mg/kg) accelera lo sviluppo puberale di alcuni animali, mentre a dosi alte (750mg/kg) lo rallenta⁵⁸⁶. Un esempio altrettanto "paradossale", con effetti opposti nei due sessi, concerne le alterazioni dello sviluppo puberale: i ratti *Sprague-Dawley* esposti a genisteina e a metossicloro presentano infatti **sviluppo puberale precoce nelle femmine e ritardo puberale nei maschi**⁵⁸⁷.

Ma è soprattutto importante notare come gli effetti varino enormemente in relazione al grado di maturazione degli organismi interessati: **l'esposizione a quantità minime di interferenti endocrini nelle primissime fasi della vita (finestre di esposizione)**⁵⁸⁸ potendo produrre danni gravissimi, destinati a evidenziarsi dopo anni o decenni, in quanto, come detto, tali sostanze possono "s-programmare" organi e tessuti, agendo sul DNA o meglio sul suo *software*, l'epigenoma.

Numerosi studi biochimici e tossicologici dimostrarono come tali sostanze, pur differendo enormemente sul piano molecolare, utilizzassero **gli stessi meccanismi d'azione**: diossine e furani, policlorobifenili, ftalati, pe-

sticidi, farmaci estrogenici e metalli pesanti interferiscono infatti **sugli stessi recettori e pathways intracellulari**. Questo favorisce enormemente gli **effetti tossici sinergici**: sono stati documentati, ad esempio, durante lo sviluppo embrio-fetale, effetti combinati sia tra composti dello stesso gruppo chimico (ad esempio gli ftalati), che tra molecole totalmente diverse tra loro (come plasticizzanti e pesticidi)⁵⁸⁹.

Tra gli effetti combinati più noti possiamo ricordare le alterazioni **nella produzione di testosterone** dovute a quantità minime di ftalati diversi⁵⁹⁰ e le **alterazioni della sfera genitale femminile** secondarie alla esposizione a misture di interferenti endocrini dotate di effetto estrogenico (bisfenolo A, genisteina, estradiolo, dietilstilbestrolo..) somministrate in dosi insignificanti⁵⁹¹.

È evidente che tali possibili effetti combinati e sinergici rendono estremamente difficile la valutazione degli effetti tossici complessivi⁵⁹². Ed è importante notare come, mentre i primi studi si erano concentrati sull'identificazione di prodotti chimici in grado di interferire direttamente sui recettori degli steroidi e degli ormoni tiroidei e di danneggiare la sfera sessuale/riproduttiva, gli studi più recenti abbiano messo in rilievo come gli interferenti endocrini possano **disturbare le principali pathways segnaletiche intercellulari e intracellulari e i circuiti di regolazione omeostatica e metabolica**⁵⁹³; come alcune di queste molecole possano agire **sulle cellule embrio-fetali in via di differenziazione, alterando la programmazione** dei tessuti centrali (ipotalamo/asse ipotalamo-ipofisario-surrenalico) e periferici (tessuto adiposo, tessuto muscolare) e causando, in particolare nelle zone caratterizzate da inquinamento persistente da tali sostanze, un incremento significativo di patologie complesse e in particolare di obesità e diabete ⁵⁹⁴; come la “diffusione globale” in ambiente e catene alimentari di “interferenti obesogeni”⁵⁹⁵ potrebbe rappresentare (come abbiamo visto nel capitolo precedente) la causa più importante delle grandi epidemie di obesità/diabesità che allarmano le maggiori agenzie internazionali⁵⁹⁶.

Come abbiamo visto l'incremento pandemico di obesità e diabesità appare il prodotto di un'alterata regolazione del metabolismo glucidico e lipidico e il meccanismo di base sembra essere quello di un' **alterata programmazione in utero degli organi e tessuti, centrali e periferici**, implicati.

Negli ultimi anni la ricerca si è concentrata sui **circuiti di regolazione centrale** (centri ipotalamici di appetito e sazietà), mettendo in rilievo le alterazioni delle modalità di trasmissione, integrazione, elaborazione dei segnali periferici (leptina, insulina, grelina)⁵⁹⁷ e/o a carico dei principali neuropeptidi ipotalamici (NPY e melanocortine)⁵⁹⁸ e neurotrasmettitori (serotonina e monoamine: noradrenalina, dopamina)⁵⁹⁹. Ma anche l'alterata programmazione dei tessuti periferici (fegato, tessuto adiposo e muscolare) svolge un ruolo chiave.

L'aspetto forse più preoccupante concerne, come visto, la possibile **trasmissione di alcune delle marcature epigenetiche reattive da una generazione all'altra**⁶⁰⁰, che potrebbe implicare una **progressiva amplificazione transgenerazionale** del danno. E non sono soltanto le “pandemie” di obesità e diabete a rendere questa ipotesi verosimile: è infatti innegabile che **in pochi decenni quasi tutte le patologie di ambito endocrino-metabolico (ivi compresi i tumori a carico di tiroide, ipofisi, ma soprattutto mammella, prostata, testicolo e pancreas)**⁶⁰¹ **sono notevolmente aumentati**, spingendo numerosi ricercatori a indagare circa le cause ambientali e in particolare chimiche (EDCs) di un tale incremento⁶⁰².

Per quanto concerne la sfera genitale e riproduttiva è noto come la **concentrazione spermatica** nel 1990 risultasse già dimezzata rispetto a cinquant'anni prima⁶⁰³ e come il numero di bambini con **malformazioni genitali (criptorchidismo, ipospadia etc.)** sia in grande aumento in tutto il mondo⁶⁰⁴ e anche in Italia, in specie nelle aree più inquinate⁶⁰⁵. È proprio il contemporaneo verificarsi di *trend* crescenti in svariate patologie dell'apparato riproduttivo maschile (ipospadie, criptorchidismo e cancro testicolare) e femminile (**pubertà precoce**⁶⁰⁶, **irregolarità mestruali**⁶⁰⁷, **sindrome dell'ovaio policistico**⁶⁰⁸) a suggerire che all'origine di tutto questo ci sia un'aumentata esposizione a interferenti endocrini⁶⁰⁹.

A questo proposito vogliamo soffermarci su due casi particolarmente emblematici.

● Il Dramma del DES

Qualche parola in più vogliamo spendere su un altro caso occorso negli anni '70, tutto sommato meno noto al grande pubblico, rispetto ai drammi di Minamata e Seveso, ma almeno altrettanto emblematico: il caso del **Dietistilbestrolo (DES)**, un farmaco dotato di attività estrogenica, letteralmente “sperimentato” in USA come antiabortivo, nel secondo dopoguerra, su milioni di donne.

Il DES era un farmaco destinato, sulla carta, al trattamento di gravidanze a rischio, del quale era stata segnalata per tempo la scarsa efficacia⁶¹⁰ e che fu somministrato a donne che non ne avevano alcuna necessità⁶¹¹. Il 15 aprile del 1971 il *New England Journal of Medicine* pubblicò un *report* di tre medici del *Massachusetts General Hospital* che associava all'uso di DES in donne al primo trimestre di gravidanza l'insorgenza nelle loro giovani figlie (età tra 14 e 22 a.) di una relativamente rara forma di adenocarcinoma della vagina e/o della cervice uterina. Negli anni successivi si scoprì che le “*DES Daughters*”⁶¹², erano anche a rischio di patologie autoimmuni; che il rischio di sviluppare un adenocarcinoma genitale era presente anche in età più tardiva (30-40 anni)⁶¹³; che malformazioni genitali potevano colpire i figli di entrambi i sessi⁶¹⁴: criptorchidismo, ipoplasia testicolare, ipospadia⁶¹⁵, anomalie spermatiche nei maschi⁶¹⁶, infertilità⁶¹⁷ aborti, parti prematuri e gravidanze ectopiche⁶¹⁸ nelle femmine; che all'uso di DES poteva conseguire un carcinoma mammario anche nelle donne che lo avevano direttamente assunto⁶¹⁹. E ancora: che anche in altre specie animali il DES determina un *imprint* estrogenico permanente⁶²⁰: l'esposizione di topi a dosi minime durante lo sviluppo incide sulla fertilità, altera la morfologia del tratto riproduttivo, induce l'espressione persistente di alcuni oncogeni come il c-fos⁶²¹ e l'insorgenza di adenocarcinomi della vagina e del testicolo⁶²² (oltre a neoplasie più rare a carico dell'utero e dei residui mesonefrici)⁶²³.

Ben presto ci si rese conto del fatto che, essendo il DES rapidamente metabolizzato ed eliminato dall'organismo, le alterazioni persistenti che conseguivano all'esposizione fetale al farmaco, non potevano essere effetti “tossici” diretti della molecola⁶²⁴.

Pochi ricordano che fu proprio il dramma del DES a confermare in Lorenzo Tomatis (futuro direttore scientifico di IARC e di ISDE)⁶²⁵ la convinzione che almeno una parte delle neoplasie infantili potesse avere origine non solo e non tanto transplacentare (da esposizione diretta del feto), ma addirittura transgenerazionale (per modifiche genetiche o epi-genetiche delle cellule germinali, precedentemente esposte ad agenti tossici)⁶²⁶.

Numerosi studi sperimentali su animali documentarono, negli anni successivi, gli effetti cancerogeni a lunga-lunghissima scadenza del DES e ne chiarirono, almeno in parte, il particolare meccanismo patogenetico e cancerogenetico, riassumibile in questi termini: l'esposizione al DES (o ad altre molecole tossiche)⁶²⁷ durante periodi critici dello sviluppo altera in modo permanente la programmazione epigenetica di organi e tessuti (in particolare di quelli nelle cui cellule sono fisiologicamente espressi i recettori degli estrogeni), aprendo la strada a degenerazioni benigne e maligne, in particolare nell'ambito del sistema endocrino e dell'apparato riproduttivo⁶²⁸.

Si vide, in particolare, che il DES induce l'espressione *in utero* di numerosi geni coinvolti nel *programming* tissutale - Wnt7a, Hoxa9, Hoxa10, Hoxa11⁶²⁹ - determinando cambiamenti nell'architettura e morfologia dei tessuti interessati⁶³⁰ e che un tale meccanismo richiede l'attivazione del recettore-a degli estrogeni (ER α)⁶³¹.

Tali osservazioni contribuirono anche alla comprensione del periodo di sviluppo ontogenetico come periodo di grande plasticità adattativa (*finestre di esposizione*) all'azione di molecole esogene e, in particolare, ai modulatori ormonali dotati di attività (xeno)estrogenica, in grado di influenzare il *programming* tissutale aprendo la strada a patologie cronico-degenerative, endocrino-metaboliche e neoplastiche destinate a manifestarsi dopo anni/decenni (in età adulta). Ad una più precisa comprensione del meccanismo contribuirono studi sperimentali

tali sempre più numerosi e sofisticati: uno di questi, particolarmente incisivo, dimostrò come l'esposizione al DES in un preciso momento dello sviluppo (il 17° giorno di gravidanza) sia in grado di modificare in modo stabile l'assetto epigenetico delle cellule del miometrio murino, causando un incremento di espressione di geni estrogeno-dipendenti e la frequente insorgenza di **leiomiomi** in topini portatori di un difetto genetico a carico di un gene onco-soppressore⁶³². Dato di estremo interesse anche in ragione della sempre maggior frequenza di tali tumori in ambito umano e della documentata associazione di questi con esposizione prenatale a DES⁶³³. Studi condotti con altri xeno-estrogeni, quali bisfenolo A e genisteina, ne documentarono l'analoga capacità di interferire, se somministrati nel periodo di maggior plasticità/sensibilità del feto, con il *programming* fetale⁶³⁴. L'aspetto più preoccupante dell'intera vicenda concerne il problema della **possibile trasmissione transgenerazionale non di un danno genetico, ma di marcature epigenetiche**⁶³⁵ indotte da un agente tossico. E questo non solo per il fatto che le donne trattate col DES sono state oltre due milioni⁶³⁶; che ancora oggi, a distanza di decenni e nonostante l'uso di DES sia stato bandito da oltre 30 anni, se ne continuano a registrare gli effetti negativi⁶³⁷; che i discendenti di prima e seconda generazione dei topi esposti presentano un'alta incidenza di tumori dell'apparato riproduttivo⁶³⁸; ma anche e soprattutto per la documentata azione pro-cancerogena, in certa misura analoga a quella del DES, di molte altre molecole (note e ignote) disperse in ambiente e catene alimentari e dotate di attività endocrino-mimetica e, come detto, di potenzialità sinergiche⁶³⁹. Sono sempre più numerosi gli studi che dimostrano come l'esposizione precoce a sostanze estrogeno-mimetiche possa determinare trasformazioni persistenti dell'assetto epigenetico di tessuti ed organi (in particolare alterazioni persistenti nella metilazione di siti promotor di alcuni geni estrogeno-dipendenti) e, soprattutto, della linea **germinale**, che possono essere trasmesse alle generazioni future⁶⁴⁰. Studi recenti suggeriscono, a conferma dei timori manifestati oltre 30 anni orsono da Tomatis, che alterazioni epigenetiche in grado di aprire la strada al cancro, possono essere ereditate attraverso la linea germinale e colpire più generazioni⁶⁴¹ (così, ad esempio, neoplasie rare insorte in topine esposte in utero a DES possono manifestarsi nelle successive generazioni)⁶⁴².

● Gli ultimi studi sulla sindrome di Yusho

A conclusione di questa breve panoramica, concernente i possibili effetti attuali e futuri della diffusione in ambiente di interferenti endocrini sulla salute umana, vogliamo ricordare brevemente gli ultimissimi dati degli studi concernenti i discendenti delle vittime della *Sindrome di Yusho*.

In un breve articolo, pubblicato sul numero di marzo di *Epidemiology*, un gruppo di ricercatori giapponesi ha infatti analizzato alcuni dati concernenti i possibili **effetti transgenerazionali** della succitata esposizione di massa a PCBs e PCDFs. Il dato principale emerso da tali studi concerne gli effetti sulla **differenziazione sessuale** e consiste nella significativa **riduzione di neonati di sesso maschile unicamente nella seconda generazione** di discendenti da donne esposte in giovane età (prima dei 20 anni)⁶⁴³: un dato che sembra confermare appieno il meccanismo suddescritto della prevalente trasmissione epigenetica del danno⁶⁴⁴, la sua pericolosità (amplificazione transgenerazionale “subdola”) e il possibile nesso tra diffusione di interferenti endocrini e alterazione mondiale della *sex ratio*⁶⁴⁵.

Non bisognerebbe infine dimenticare come danni analoghi e altrettanto gravi siano stati segnalati, fin dai tempi di Rachel Carson, in decine di specie animali. È dunque l'**intera biosfera**⁶⁴⁶ a soffrire le conseguenze del nostro modello produttivo e di vita che si rivela di giorno, in giorno più “in-sostenibile”. E non mancano neppure gli studi che prendono in considerazione i possibili effetti che la diffusione sempre più ubiquitaria di interferenti endocrini e molecole mimetiche nella biosfera potrebbe avere **in ambito bio-evolutivo**⁶⁴⁷.

■ NOTA A MARGINE

Riflessioni su pubertà precoce femminile, obesità e tumori mammari

Pubertà precoce femminile, obesità e tumori mammari sono patologie che hanno avuto un notevole incremento negli ultimi decenni. Si è cercato in vario modo di spiegare (l'incremento di) tali patologie, privilegiando colle-

gamenti di tipo “orizzontale”: si è cercato cioè di comprendere in che modo la pubertà precoce possa favorire l’obesità e/o l’insorgenza di un carcinoma del seno, o in qual misura possa essere l’obesità a favorire una pubertà precoce o la trasformazione neoplastica del tessuto mammario (e di altri tessuti). Meno frequentemente si è cercata una rappresentazione “verticale” del problema: cioè un’origine comune, una causa unica che possa favorire l’insorgenza delle tre patologie.

In genere si ammette all’origine delle suddette patologie uno “squilibrio ormonale”. In molti casi all’origine della pubertà precoce “vera” (centrale) si riconosce **un’attivazione prematura dell’asse ipotalamo-ipofisario-gonadico**. Problemi ormonali vari e complessi (interni al tessuto adiposo ed esterni ad esso) appaiono determinanti nella gran parte dei casi di obesità e della “pandemia” di obesità e diabete 2 che, come detto, rischia di diventare uno dei maggiori problemi di salute pubblica delle cosiddette società “sviluppate” (e non solo): **leptino-resistenza e insulino-resistenza periferica** rappresentano certamente due meccanismi chiave, ma anche in questo caso il **ruolo dell’ipotalamo** appare fondamentale. La **prolungata esposizione a estrogeni endogeni** - connessa all’anticipazione del periodo puberale e alla procrastinazione (anche indotta) della menopausa – ed esogeni (e a loro equivalenti sintetici e mimetici) rappresenta un fattore-chiave dell’aumento di tumori mammari.

Ma se tutto questo è vero, le domande che dobbiamo porci sono le seguenti: quali sono **le cause più probabili dell’alterazione di circuiti auto-regolativi delicati e complessi, che sono il prodotto di milioni di anni di evoluzione biologica?** Quali possono essere le conseguenze di questa che nei singoli individui si configura come una perturbazione (più o meno grave) dei meccanismi bio-omeostatici, ma che in un ambito biologico/bio-evolutivo più ampio potrebbe avere conseguenze assai più gravi?

Una interessante risposta a queste domande può venire da una ricostruzione appunto “verticale” dei problemi suddetti: basata non su un’analisi dei meccanismi causali comuni alle diverse patologie, ma **su un’analisi “diacronica” dei sottostanti processi fisio-patologici, tanto a livello del singolo individuo, che in ambito collettivo e di specie.**

A livello individuale le tre manifestazioni patologiche sopraindicate potrebbero configurarsi come il prodotto di un **percorso ontogenetico alterato** (e più precisamente di una difettosa programmazione epi-genetica dei tessuti endocrino-metabolici); a livello collettivo e di specie vi si potrebbe scorgere il segno di uno **scompenso evolutivo/adattativo più generale**, determinato da un troppo rapido cambiamento degli stili di vita o addirittura della stessa composizione chimico-fisica dell’ecosfera (e in particolare della biosfera e delle catene alimentari).

È evidente come quest’ultima ipotesi di un ruolo fondamentale svolto dalla rapida trasformazione chimico-fisica dell’ecosfera e dal conseguente **mismatch molecolare e “segnalatico”** sia particolarmente interessante, perché potenzialmente in grado di fornire un’interpretazione univoca di quanto accade tanto a livello umano (individuale e collettivo) che in altre specie e, al contempo, preoccupante. Come avvalorato da alcuni drammatici episodi nell’ambito della salute umana; da numerosi studi di tipo epidemiologico e tossicologico (su animali); dalle sempre più consistenti segnalazioni di analoghi problemi e alterazioni nell’ambito degli ecosistemi naturali (*wildlife*).

Tanto più che le sostanze chimiche e farmacologiche più frequentemente associate tanto in ambito epidemiologico che tossicologico alle patologie suddette (DES e altri estrogeni sintetici; bisfenolo A e ftalati; pesticidi...) sono in grado di interferire con la programmazione fetale (epigenetica) di tessuti ed organi in numerose specie animali.

CAPITOLO 14

DANNI DA RADIAZIONI IONIZZANTI (ESPOSIZIONE INTERNA, TRANSPLACENTARE, TRANSGENERAZIONALE)

Per valutare gli effetti delle radiazioni ionizzanti sulla salute umana si continua a far uso di modalità di valutazione del rischio e del danno, basate su un modello disegnato dai fisici oltre mezzo secolo fa. Persino i modelli biologici di danno sono basati sulla genetica degli anni cinquanta: la ricerca in biologia molecolare, non solo nel campo dell'epigenetica, ma addirittura della genetica e della genomica degli ultimi trent'anni, non è stata ancora presa in considerazione. Avviene così che, come e più che in altri settori dell'epidemiologia e della cancerogenesi ambientale, pochi si rendano conto del fatto che le vere conseguenze non solo delle situazioni in cui si verifica un'esposizione collettiva o di massa (come nel caso di incidenti rilevanti), ma anche di esposizioni di bassa intensità, ma perduranti nel tempo (come avviene per le popolazioni che risiedono nei dintorni degli impianti nucleari o di riprocessamento del materiale fissile), si manifesteranno dopo decenni e non tanto sugli adulti direttamente esposti, quanto sui loro figli e sulle generazioni future. Cercheremo di dimostrare che soltanto un'analisi più attenta, *tanto* degli studi sperimentali, *che* di quelli epidemiologici, consentirebbe di comprendere come l'esposizione per via interna - alimentare, ma anche transplacentare o addirittura transgenerazionale (termini che fanno riferimenti a modalità di esposizione e trasmissione del danno alquanto diverse) - a dosi piccole, ma frequenti di radiazioni ionizzanti, rappresenti un pericolo in genere più consistente e assai più difficile da valutare e dimostrare, rispetto a esposizioni dirette, massive, per via esterna. E vedremo che, *tanto* in conseguenza delle suddette vie di esposizione, *che* in conseguenza della loro particolare situazione biologica sono, ancora una volta, gli organismi in via di sviluppo – i bambini e soprattutto embrioni e feti – a subire le conseguenze più gravi.

*"Those who cannot remember the past are condemned to repeat it."*⁶⁴⁸

Già queste prime considerazioni ci permettono di comprendere come mai sussistano ancora dubbi circa la reale consistenza delle conseguenze sulla salute degli esposti e dei loro figli, sia in relazione ai pochi **incidenti** dei quali abbiamo avuto notizie e dati relativamente certi (come quelli di Sellafield e di Chernobyl), sia per ciò che concerne i più volte segnalati **cluster di leucemie infantili** nei dintorni delle centrali nucleari in Germania, in Francia, in USA.

È del resto un dato di fatto che non solo le Agenzie preposte alla valutazione dei rischi e dei danni da esposizione, ma persino la gran parte dei ricercatori impegnati in questo campo continui a far riferimento al **vecchio modello LNT "lineare-senza-soglia"** e a basarsi su calcoli teorici della **"dose totale assorbita"**: concetti vecchi di decenni e che tengono in poco conto i modelli più recenti di danno biologico e, in particolare, (epi) genetico⁶⁴⁹.

A questo punto la domanda obbligata diventa: è mai possibile che istituzioni autorevoli e ricercatori ed esperti di tutto il mondo propongano un'analisi rassicurante persino di eventi drammatici come quelli su ricordati e del possibile impatto di impianti ed altri siti necessari alla produzione di energia nucleare, senza basarsi su ricerche e dati assolutamente certi? Non è più probabile che a proporre allarmi o addirittura a propalare allar-

mismi siano pacifisti, ambientalisti o neo-luddisti o, magari, soggetti variamente interessati allo sviluppo di tecnologie alternative al nucleare?

Una risposta altrettanto obbligata è che le cose non stanno esattamente in questi termini. Per almeno *due ragioni* strettamente connesse.

La *prima* è che a porre quesiti importanti circa i rischi reali per la salute delle popolazioni esposte e per l'intera umanità dalla produzione e dell'utilizzo crescente di radiazioni ionizzanti; a interpretare in modo alquanto diverso i risultati degli studi epidemiologici "storici" (primi fra tutti quelli sulla coorte dei sopravvissuti di Hiroshima e Nagasaki e quelli sulle popolazioni esposte al *fall-out* di radioisotopi successivo all'incidente di Chernobyl) che hanno contribuito alla definizione degli stessi modelli e parametri di valutazione del rischio; a manifestare dubbi crescenti sui modelli dominanti e, soprattutto, a proporre modelli radicalmente diversi concernenti i rischi delle esposizioni persistenti a piccole dosi (assai più frequenti di quelle "accidentali" a grandi dosi) e i meccanismi biologici (e soprattutto genetici, epi-genetici, pro-cancerogeni e trans-generazionali) del danno, sono scienziati non meno competenti e stimati e appartenenti a enti di ricerca non meno prestigiose di quelli sopra citati, che pubblicano su giornali altrettanto autorevoli ⁶⁵⁰.

La *seconda* ragione è che le ricerche concernenti proprio le situazioni caratterizzate da *esposizione persistente a dosi di gran lunga inferiori* a quelle ufficialmente definite dannose (in particolare: gli studi sulle popolazioni meno direttamente esposte alla contaminazione radioattiva prodotta dall'incidente di Chernobyl e quelli sui bambini residenti nei dintorni di centrali nucleari e/o generati da soggetti esposti in età fertile a radiazioni ionizzanti) forniscono, da oltre due decenni, risultati preoccupanti, del tutto inspiegabili sulla base dei modelli di valutazione correnti. Al punto che l'abituale ricorso, da parte delle istituzioni suddette e di molti esperti, all'argomento della *non plausibilità biologica* del nesso tra esposizione a piccole dosi e i gravi danni alla salute (in specie infantile) descritti nella letteratura più recente, comincia a configurarsi come una sorta di *petizione di principio*. Ed è importante sottolineare come siano sempre più numerose le prese di posizione da parte della comunità scientifica internazionale per una radicale *revisione critica del paradigma corrente* di valutazione del rischio⁶⁵¹ e degli stessi modelli di patogenesi (e soprattutto di cancerogenesi) dominanti⁶⁵².

Dobbiamo *in primis* cercare di chiarire alcuni punti essenziali da tenere in mente ai fini di una lettura critica delle attuali valutazioni di rischio e di danno. Come ormai sappiamo più che bene, la donna è esposta, nel corso della gravidanza, a tutta una serie di agenti chimico-fisici (xenobiotici, radiazioni ionizzanti, campi elettromagnetici (CEM) che potranno avere effetti lesivi (spesso sinergici) non solo sulle proprie cellule e tessuti e su quelli del bambino che sta per venire al mondo, ma anche, appunto sui **gameti** di questo e quindi, sulle **generazioni future**. È importante sottolineare fin d'ora la **differenza tra esposizione transplacentare e transgenerazionale**: inserire nell'ambito della tematica che stiamo trattando e, più in generale, nell'ambito dell'epidemiologia ambientale queste semplici nozioni significa comprendere che per via **epigenetica** gli effetti di questo tipo di esposizione si potranno vedere e valutare soltanto a distanza di decenni e nelle generazioni a venire. Cosa di cui, fin ad oggi si è tenuto assai poco conto. Soprattutto in ambito epidemiologico, ma anche in campo sperimentale.

Per comprendere il problema bisogna tenere a mente tre punti essenziali:

- i **modelli utilizzati per la valutazione del rischio e del danno** sono assolutamente antiquati e insufficienti;
- esistono **effetti molecolari, cellulari, tissutali e persino sistemici, come l'effetto bystander**, noti da oltre quarant'anni, che sono tuttora presi in scarsa considerazione⁶⁵³;
- è stata documentata, non solo nelle cellule direttamente esposte a radiazioni ionizzanti, ma persino in cellule distanti, nell'ambito dello stesso o di altri tessuti, **un'instabilità genomica ed epigenetica progressiva**, che sembra essere l'effetto più pericoloso e sottovalutato dell'esposizione a piccole dosi continue.

Questo significa che **gli effetti (epi)genetici tendono ad accumularsi nel tempo, a differenza dei danni diretti al DNA** presi in considerazione nei modelli “classici”, che come vedremo, sono puramente teorici e non tengono in alcun conto i dati molecolari che emergono dagli studi più recenti.

● Il modello *Linear no-threshold*

Come dicevamo le modalità di valutazione dell'esposizione e del rischio si fondano, in larga parte, sul cosiddetto modello ***Linear no-threshold (LNT)***, vecchio di oltre mezzo secolo, ma che rappresenta il metodo-base per la previsione a lungo termine dei danni biologici causati da radiazioni ionizzanti, ancora oggi accettato dalla gran parte delle agenzie internazionali competenti e dei ricercatori⁶⁵⁴. Cerchiamo di capire, in breve, di che cosa si tratta

Nel 1956 Puck e Markus svilupparono il **modello clonogenico**, proponendo per la prima volta, sul *Journal of Experimental Medicine*⁶⁵⁵ il concetto di *relazione lineare dose-effetto*, che rappresenta il primo pilastro del **Modello LNT**, basato, in sintesi, su un triplice presupposto: che **non esiste una soglia** definita al di sotto della quale il rischio sia pari a zero; che **il rischio è direttamente proporzionale alla dose totale assorbita, per cui la somma di molte piccole esposizioni avrebbe lo stesso effetto di un'esposizione massiva**; che **il danno cresce in modo lineare** (cioè in modo direttamente proporzionale al crescere del livello della dose assorbita) per qualsiasi valore della dose.

Da allora si cercò di quantificare gli effetti delle radiazioni mediante modelli ed equazioni matematiche sempre più complesse e il **criterio-base divenne quello della capacità di sopravvivenza delle cellule di un tessuto esposto a radiazioni**: un criterio puramente teorico che si sarebbe, in seguito, rivelato errato e fuorviante. Essendo il rischio cancerogeno quello al contempo più temuto e più correntemente valutato è importante ricordare come ancora di recente un articolo pubblicato sull'autorevole rivista dell'*Accademia americana delle Scienze* abbia concluso che: “*Allo stato attuale delle conoscenze, l'ipotesi più ragionevole è che i rischi di cancro per esposizione a basse dosi di raggi x o γ diminuiscano linearmente con il diminuire della dose*”⁶⁵⁶.

E sulla stessa linea sono la gran parte delle agenzie e istituzioni scientifiche e sanitarie, nonostante, come vedremo, alcuni studi recenti abbiano dimostrato effetti più gravi del previsto (ad esempio danni neurologici⁶⁵⁷ ed effetti cancerogeni sui bambini esposti, in età fetale o nelle settimane immediatamente successive all'incidente di Chernobyl⁶⁵⁸) per dosi estremamente basse di inquinamento radioattivo da *fallout*: dosi alle quali, in base al modello LNT, non avrebbero dovuto esserci rischi.

È anche interessante notare come, sulla base del modello LNT, ciò che differenzia gli effetti delle radiazioni ionizzanti da quelli provocati da mutageni chimici sarebbe la **minore specificità delle lesioni**: una caratteristica da ricollegare al fatto che il danno cellulare viene considerato come essenzialmente dovuto all'**energia introdotta nei tessuti colpiti**, che ne farebbe una sorta di cancerogeno universale, in grado cioè di danneggiare cellule e tessuti diversi, anche se in genere meno potente di molti agenti chimici mutageni.

L'esposizione a radiazioni viene dunque quantificata sulla base dell'energia associata e i concetti “storici” di dose assorbita, misurata in Grays (Gy), e di dose equivalente, misurata in Sieverts (Sv) sono tutt'ora utilizzati nei modelli di valutazione dell'esposizione e del danno. Il Gray (Gy) è un'unità di misura molto grande, visto che solitamente si è esposti, a dosi di millesimi di Gray (mGy) e per meglio definire gli effetti biologici si utilizzano generalmente Sievert e il millisievert (mSv, 1 Sv = 1000 mSv). Per tradurre gli effetti in Sieverts si usano fattori di danno che variano a seconda del tipo di energia radiante: se, ad es., gli effetti in Sievert di una “esposizione esterna” a raggi x o γ (radiazioni a basso LET, cioè dotate di minor energia e capacità di penetrazione nei tessuti) sono valutati moltiplicando per un fattore 1 la dose assorbita, per valutare gli effetti di un’“esposizione interna” a particelle β (radiazioni ad alto LET) si dovrà moltiplicare la dose per un fattore 20. Per avere un'idea delle quantità di radiazioni che assorbiamo, secondo le principali agenzie internazionali, è anche utile ricordare cosa si intenda per **radiazione di fondo** e per **radiazioni antropiche**.

Un altro concetto-base della rappresentazione dominante è il notevole dislivello tra la cosiddetta **radiazione di fondo** (la dose media assorbita per un essere umano sarebbe, secondo i calcoli delle agenzie internazionali preposte, di circa 2,4 millisievert (mSv)/anno) e le **radiazioni di origine antropica**, conseguenza dei test nucleari degli anni '40-'70, degli incidenti nucleari e delle emissioni dell'intera industria nucleare che ammonterebbero in tutto a circa 5 µSv/anno a cui si potrebbe, al limite, aggiungere un'"esposizione media" (?) in ambito sanitario oscillante tra 0,04 e 1 mSv annui: un normale esame radiologico implicando un assorbimento di 1 mGy (= mSv) e una TAC di circa 6-8 mGy (3-4 mSv)⁶⁵⁹.

Non è difficile riconoscere i limiti intrinseci di una simile impostazione. È infatti ben noto che tutti gli organismi vivono ed evolvono da sempre in un ambiente ricco di energia nella duplice forma di radiazioni/corpuscoli. Ci sono anzi stati, nel corso dell'evoluzione, periodi in cui gli organismi erano esposti a quantità anche maggiori di radiazioni ionizzanti, che potrebbero aver avuto un ruolo importante nel processo bio-evolutivo (inducendo o favorendo le mutazioni genetiche). Quel che è discutibile, su un piano teorico, è mettere sullo stesso piano questa radiazione naturale e la gamma rapidamente crescente di radiazioni, ionizzanti e non, che l'uomo ha immesso in ecosfera negli ultimi decenni e che impregnano l'aria, il cibo e le pareti delle case. Sarebbe come se, nell'ambito della mutagenesi chimica, della tossicologia e della tossico-genomica, non si tenesse conto dell'assai maggior pericolosità per le nostre cellule delle decine di migliaia di molecole di sintesi o di scarto della produzione industriale (i cosiddetti *xenobiotici*) che, non essendo frutto di miliardi di anni di lenta coevoluzione molecolare, possono interagire in modo paradossale con i recettori plasmatici e nucleari, con le molecole segnale (*in primis* gli ormoni e i morfogeni nell'ambito dello sviluppo embrio-fetale) e con il nostro stesso DNA. Ma ancora più discutibile è, come meglio diremo, mettere sullo stesso piano le radiazioni cui gli organismi sono esposti dall'esterno e quelle che determinano **un'esposizione continua per via interna e persino per via transgenerazionale** (discorso che vale, in particolare, per i "nuovi" isotopi quali Sr 90⁶⁶⁰, Cs 137⁶⁶¹ e Pu 239⁶⁶²).

Il *secondo pilastro* della radiobiologia classica scaturì dalla definizione più precisa del danno primario al DNA, che seguì alla descrizione, nel 1961, delle cosiddette rotture "*stocastiche*" di uno o di entrambi i filamenti della doppia elica (***Single Strand Breaks-ssbs***; ***Double Strand Breaks-dsbs***), interpretate quali lesioni primarie nel DNA esposto a radiazioni⁶⁶³: in pratica le *basse dosi* di radiazioni causerebbero essenzialmente *ssbs*, facilmente riparabili, mentre ad *alte dosi* predominerebbero le rotture, «potenzialmente letali» per la cellula, di entrambi i filamenti della doppia elica di DNA (*dsbs*)⁶⁶⁴. **Soltanto un'esposizione massiva** (dell'ordine di 1-2 o più Gray) a radiazioni provocherebbe danni significativi ai tessuti e alla salute umana: effetti a loro volta suddivisi, piuttosto astrattamente, in **deterministici** (da danno cellulare diretto) e **stocastici**.

Non è possibile, in questa sede, analizzare in dettaglio i limiti di una rappresentazione così astratta e schematica. Ci limiteremo a notare come all'origine di molte delle attuali critiche al modello LNT ci sia la conoscenza del cosiddetto **effetto bystander**, cioè dei danni che le cellule non direttamente irradiate subiscono a causa di segnali molecolari che arrivano da cellule irradiate presenti nello stesso tessuto o addirittura nell'intero organismo⁶⁶⁵; e come molti studi sperimentali recenti abbiano documentato **modalità di danno biologico e in particolare (epi)genetico alquanto diverse da quelle ipotizzate dai modelli tradizionali**.

Le prime critiche al modello LNT erano emerse già negli anni '50, quando alcuni ricercatori cercarono di dimostrarne sperimentalmente i limiti, a partire da precedenti studi sui danni genetici indotti da radiazioni⁶⁶⁶.

Uno degli errori più gravi presente negli studi degli anni 60-70 consisteva nell'ipotesi secondo cui una cellula che aveva subito radiazioni, ma era sopravvissuta ed era ancora in grado di replicarsi, dovesse esser considerata **sana a tutti gli effetti e assolutamente identica a cellule mai irradiate**. In pratica si cercava, in tal modo, di preservare l'idea dell'importanza del danno genetico "*stocastico*" iniziale escludendo la possibilità che gli effetti dannosi a carico delle cellule o del DNA potessero accumularsi nel tempo e che il danno

accumulato potesse manifestarsi anche dopo mesi o anni.

Ma l'idea che le cellule che sopravvivevano alle radiazioni, pur apparendo totalmente normali, accumulassero danni, cominciava a farsi strada. Si vide, in particolare, che **le cellule irradiate non potevano andare oltre le 7-10 divisioni e, soprattutto, che alcune mutazioni ed eventi letali si manifestavano soltanto nella progenie delle cellule irradiate**⁶⁶⁷. Alcuni ricercatori cominciarono a parlare di **accumulo progressivo di mutazioni e aberrazioni cromosomiche** e a prospettare l'idea che bisognasse riconsiderare criticamente l'intero modello, a partire dalla tesi, del tutto inverosimile, dell'assoluta normalità delle cellule sopravvissute alle radiazioni⁶⁶⁸.

Una svolta fondamentale si verificò nel 1992, allorché comparve su *Nature* uno studio che descriveva l'apparire di aberrazioni cromosomiche *non clonali* nella progenie di cellule midollari irradiate da particelle alfa⁶⁶⁹. Per la radiobiologia tradizionale si trattava di una vera e propria eresia, visto che nel modello dominante il danno genetico era direttamente indotto dalla radiazione e quindi precoce, mentre, secondo questo studio, il danno sembrava consistere essenzialmente in una **instabilità genomica progressiva a carico delle diverse popolazioni cellulari che popolavano il midollo irradiato**. La spiegazione più probabile di questo inatteso fenomeno era che **le radiazioni determinavano un danno o un'attivazione patologica delle cellule staminali midollari (poco differenziate)**, che si traduceva, nelle successive generazioni cellulari, in **alterazioni genomiche**.

Gli studi sperimentali in campo ematologico, che consentivano di esporre cellule caratterizzate da diversi gradi di differenziazione a vari tipi e dosi di radiazioni, si rivelarono, negli anni successivi, particolarmente preziosi: **le colture di cellule midollari murine irradiate dimostrarono in modo sempre più evidente il prodursi di un'instabilità genomica** secondaria, che sembrava poter svolgere un ruolo chiave nell'ambito della **linfoma-leucemogenesi da radiazioni**⁶⁷⁰.

Un ulteriore passo importante fu fatto quando si dimostrò che le cellule dei ceppi murini che non sviluppavano leucemie da esposizione a radiazioni, erano resistenti *in vitro* e non sviluppavano l'instabilità genomica e le susseguenti aberrazioni cromosomiche⁶⁷¹ e, soprattutto, quando si cominciò a dimostrare l'esistenza di **analoghi meccanismi di instabilità genomica in vivo in ambito umano**⁶⁷². Il modello classico delle DSBs indotte dalle radiazioni in proporzione diretta alla loro energia si dimostrava sempre meno accettabile, tanto più che nella progenie delle cellule irradiate più che le attese mutazioni clonali, che avrebbero dimostrato il ruolo fondamentale dell'evento primario, si trovavano **aberrazioni cromosomiche frutto di una instabilità genomica e cromosomica progressiva**⁶⁷³. Anche la possibilità di collegare direttamente dose ed effetto in modo semplice sembrava svanire: era **sempre più evidente che l'irradiazione iniziale innescava un lento processo e che i danni e l'instabilità si andavano accumulando nella progenie irradiata**. E se le **mutazioni e le aberrazioni cromosomiche, lungi dall'essere l'evento primario, rappresentavano eventi tardivi non aveva più alcun senso proporre un nesso lineare tra dose iniziale e danno biologico**⁶⁷⁴.

L'essenza e la portata della **rivoluzione in atto** (e, come vedremo, tuttora incompiuta) non fu però compresa da molti: essa rimase a lungo appannaggio di alcuni eminenti ematologi sperimentali. Negli anni successivi comparvero numerosi lavori di revisione, che cercavano di fare il punto e di comprendere in che senso il nuovo concetto di instabilità genetica e cromosomica potesse cambiare l'intera rappresentazione del danno da radiazioni⁶⁷⁵. Coloro che volevano preservare a tutti i costi il vecchio paradigma cercarono di utilizzare teorie, come quella del **mutator phenotype**, che si andavano diffondendo in quegli anni e che proponevano che all'origine dell'instabilità genomica e delle molte mutazioni e aberrazioni cromosomiche presenti nelle cellule cancerose fossero essenzialmente lesioni (ancora una volta essenzialmente "stocastiche") a carico di particolari geni stabilizzanti⁶⁷⁶, o a teorizzare l'esistenza di difetti innati o acquisiti nei meccanismi di riparazione del DNA. Ma le evidenze erano altre: **l'instabilità genomica si manifestava in molte cellule e non solo in quelle direttamente colpite; le mutazioni non clonali nella progenie erano di gran lunga preponderanti rispetto a**

quelle “clonali”; a provocare tutto questo erano spesso sufficienti **dosi di radiazione assai minori di quelle attese** (intorno ai 2 mGy)⁶⁷⁷.

Sulla base di tutte queste evidenze si andava delineando l'esigenza di **sostituire un modello deterministico**, nel quale il danno era visto essenzialmente come l'effetto dell'energia associata alla radiazione, che poteva produrre **danni essenzialmente stocastici** nella molecola di DNA, con un **modello sistemico nel quale varie componenti tissutali e cellulari reagivano attivamente al danno stesso**.

● L'effetto *Bystander*

Il fatto che l'irradiazione con piccole dosi potesse interessare anche cellule non direttamente colpite era stato già segnalato negli anni '50⁶⁷⁸. A partire dagli anni '90 si poté dimostrare che **in cellule non direttamente colpite dalle radiazioni, ma vicine alle cellule irradiate, potevano verificarsi mutazioni, formazione di micronuclei, danni cromosomici strutturali, scambi di cromatidi**⁶⁷⁹.

Ben presto si comprese che non si trattava di eventi isolati e casuali, ma di effetti secondari a reazioni tissutali complesse e che, nei tessuti irradiati, cellule vicine, ma anche lontane da quelle direttamente colpite si scambiano **segnali molecolari** di danno e di pericolo⁶⁸⁰. Tra i mediatori molecolari implicati in questo scambio segnaletico si trovarono non solo **radicali dell'ossigeno**⁶⁸¹ (direttamente prodotti dalle radiazioni per radiolisi dell'acqua), ma anche **radicali dell'azoto e citochine**⁶⁸². Il che significava, tra l'altro, che **un'esposizione protratta a piccole dosi di radiazioni ionizzanti ingenera in vari tessuti dell'organismo colpito una risposta infiammatoria sistemica**⁶⁸³.

Il fatto che danni genetici o addirittura la morte cellulare, potessero colpire cellule non direttamente investite dalle radiazioni era un dato stupefacente, che contraddiceva tutti i capisaldi del modello classico (l'azione diretta della radiazione sul DNA; la precocità del danno genetico; la linearità della relazione dose-effetto-danno ecc.). Altri studi aggiunsero dati interessanti: si vide che nelle cellule di soggetti che avevano ricevuto un trapianto d'organo da individui irradiati, potevano trovarsi aberrazioni cromosomiche secondarie alla presenza nel donatore di **fattori clastogeni** (sostanze in grado cioè di danneggiare i cromosomi)⁶⁸⁴. Si trattava di un dato in parte già noto: già a partire dagli anni '60 si era visto, infatti, che **nel sangue degli esposti a radiazioni ionizzanti, come nei sopravvissuti al bombardamento di Hiroshima e Nagasaki**⁶⁸⁵ e, in seguito, nei “liquidatori” e nei bambini di Chernobyl⁶⁸⁶ o in soggetti sottoposti a radioterapia prolungata si trovavano **molecole clastogene**. Il dato nuovo consisteva nel fatto che **tali sostanze** coincidevano con i mediatori dello stress infiammatorio-ossidativo implicati nell'effetto *bystander*.

Ma soprattutto questi studi dimostravano che **i meccanismi del danno da esposizione protratta a basse dosi di radiazioni sono fundamentalmente diversi** da quelli ad alte dosi. E si faceva strada l'idea che gli effetti delle esposizioni a basse dosi possano essere, nel medio-lungo termine e a livello collettivo, potenzialmente più pericolosi delle esposizioni di breve durata a dosi massive. Se infatti **le alte dosi producono danni compatibili col modello LNT, e risultano letali per un certo numero di cellule (e quindi selezionano negativamente una parte significativa delle popolazioni cellulari), gli effetti dell'esposizione a piccole dosi possono accumularsi negli anni, provocando reazioni tissutali e sistemiche e, soprattutto, inducendo, tanto nelle cellule colpite, che in cellule non direttamente esposte e nella loro progenie, una instabilità genomica progressiva**, preliminare a mutazioni e aberrazioni cromosomiche complesse che anche a distanza di anni o decenni dall'esposizione potrebbero innescare processi cancerogenetici tanto nel soggetto esposto, che nelle generazioni successive (*cancerogenesi transgenerazionale*)⁶⁸⁷.

Ma, come abbiamo già ricordato a più riprese, **l'inerzia ai cambiamenti di paradigma** è fortissima, specie in un caso come questo in cui gli interessi e i condizionamenti sono enormi e le voci indipendenti veramente poche. Negli anni '50 la protesta contro gli esperimenti nucleari che rischiavano di inquinare l'atmosfera planetaria (*fall out* atomico) erano diventate consistenti, e il movimento anti-nuclearista creava gravi problemi.

Inevitabilmente gli scienziati presero posizioni diametralmente opposte. Tra le voci alte e indipendenti emerse quella di **Alice Stewart**, che studiando i possibili effetti delle radiazioni ionizzanti sul feto, cercò di mettere in guardia circa la possibile sottovalutazione dei rischi: grande scienziata divenne lei stessa un'attivista e venne duramente attaccata, soprattutto da uno dei più famosi esponenti dell'epidemiologia mondiale, **Sir Richard Doll**. Doll era ed è da alcuni tuttora considerato il più famoso epidemiologo del XX secolo, anche se, alla sua morte, si è diffusa la notizia che sir Richard era a libro paga della Monsanto (che gli passava 1500 dollari al giorno) e della Doe Chemicals. È importante ricordare tutto questo, perché, piaccia o non piaccia, la sua guerra ad Alice Stewart, durata fino alla morte di lei, trova così una motivazione⁶⁸⁸.

Alice Stewart e altri ricercatori avevano anche notato come **gli effetti delle radiazioni ionizzanti sul sistema nervoso centrale fossero stati enormemente sottovalutati**. Soprattutto nelle prime fasi della vita, quelle in cui si verifica la grande **migrazione neuronale** dalle principali sedi di neuro-genesi alle varie destinazioni cerebrali e si determina l'organizzazione delle principali strutture e circuiti. [In quegli anni si trattava di ipotesi non sufficientemente supportate da possibili meccanismi patogenetici. Oggi è diverso. Abbiamo ad esempio ricordato, nel capitolo sui disturbi dello spettro autistico, come su una delle riviste di *Nature* sia comparso recentemente uno studio che mostra come l'esposizione anche a radiazioni non-ionizzanti possa interferire, nelle primissime fasi della vita, in modo irreversibile con la formazione delle sinapsi glutammatergiche].

● Gli studi epidemiologici sui sopravvissuti di Hiroshima e Nagasaki

Ma torniamo al problema della valutazione dei rischi e danni da radiazione ionizzante, per ricordare come, inevitabilmente, i grandi studi sulle coorti dei sopravvissuti al bombardamento di Hiroshima e Nagasaki abbiamo pesantemente condizionato l'intera storia dell'epidemiologia in questo campo.

Un primo punto essenziale, che non dovrebbe esser sottovalutato, per quanto concerne i sopravvissuti di Hiroshima e Nagasaki, è che si trattò di una situazione assolutamente unica, nel corso della quale decine di migliaia di persone furono oggetto di **un'esposizione massiva e total body**, anche se di breve durata, a grandi dosi di radiazione a basso ed alto LET. Risultato di una simile esposizione furono: la morte praticamente istantanea di migliaia di donne, uomini e bambini; la lenta agonia di migliaia di altre vittime, i cui tessuti più direttamente esposti e/o sensibili alle radiazioni erano stati danneggiati in modo irreversibile dall'onda d'urto di miliardi di neutroni e particelle beta prodotte dall'esplosione; le patologie (neoplastiche e non) che a distanza di anni o decenni hanno colpito i sopravvissuti e la loro progenie.

I primi risultati significativi concernenti un *aumento significativo di leucemie* (con esclusione delle leucemie linfatiche croniche) furono registrati già negli anni immediatamente successivi al bombardamento. bombardamento⁶⁸⁹. Solo dopo molto tempo si cominciò a registrare un *incremento di tumori solidi* (che presentano sempre un tempo di latenza notevolmente superiore) a carico di vari tessuti ed organi: tiroide, mammella, polmone. Dapprima si osservò un aumento significativo di tumori maligni a carico della tiroide, in soggetti di età inferiore ai 20 anni al momento dell'esposizione⁶⁹⁰; poi si documentò una situazione abbastanza simile per i tumori mammari, in donne esposte in età giovanile⁶⁹¹. Per ciò che concerne i tumori polmonari, si dovette escludere il possibile effetto confondente del fumo di sigaretta: analizzando 592 casi su una coorte di 45.000 soggetti si poté concludere per un effetto additivo, piuttosto che moltiplicativo, del fumo⁶⁹².

Vanno però sottolineati anche i limiti intrinseci a questi studi, del resto segnalati da tempo. A cominciare dal fatto che il censimento stesso dei sopravvissuti sarebbe stato tutt'altro che accurato **e che i dati avrebbero cominciato a essere affidabili solo alcuni anni dopo** l'esposizione e sarebbero, comunque, incompleti⁶⁹³.

Una seconda notazione critica importante concerne le migliaia di drammatici eventi biologici e sanitari (**aborti** e morti di bambini e adulti), avvenute nelle prime settimane/mesi dopo il tragico evento e mai registrate che, se

inseriti nel computo totale degli effetti, avrebbero condotto a una quantificazione dei danni biologici e sanitari complessivi causati dal tragico evento assai diversa.

Anche la decisione di selezionare tra gli esposti essenzialmente i soggetti residenti entro due chilometri dall'epicentro dell'esplosione, considerando notevolmente meno esposti coloro che risiedevano a distanze via, via maggiori⁶⁹⁴ fu assai discutibile, considerando che il gruppo dei maggiormente esposti è anche quello che ha subito la più forte selezione iniziale (per decessi non imputabili alle radiazioni, ma all'impatto diretto dell'evento) e che l'esposizione negli anni, **in particolare attraverso le catene alimentari (quindi l'esposizione interna, la più persistente e pericolosa), non è stata necessariamente minore per quanti risiedevano ad alcuni chilometri dall'epicentro.**

Il dato forse più difficile da spiegare concerneva **gli effetti nocivi a carico della prole dei sopravvissuti**, la coorte di soggetti nei quali ci si poteva attendere i danni più gravi, tanto a livello genetico, che a livello fenotipico: la gran parte degli studi non documentò infatti (almeno nei primi decenni e sulla base dei *test* allora possibili), nei bambini nati dai genitori maggiormente esposti, né un incremento di mutazioni⁶⁹⁵, né un eccesso di malformazioni congenite⁶⁹⁶, né un aumento significativo di tumori⁶⁹⁷.

Il confronto aveva riguardato una coorte costituita dai 31.150 bambini gravemente "esposti", perché nati da genitori residenti appunto entro 2 km dall'epicentro dell'esplosione e una coorte di controllo di 41.066 bambini nati da soggetti residenti a distanza maggiore. I parametri valutati in numerosi studi riguardavano essenzialmente: gli esiti delle gravidanze (con l'importante carenza segnalata per quanto concerne i primi mesi), malformazioni congenite maggiori, natimortalità, mortalità neonatale, sesso del bambino, tumori maligni con esordio entro i 20 anni, dati di mortalità infantile (in rapporto ad un'aspettativa di vita media di 26,2 anni e con l'esclusione delle morti per cancro), sviluppo e crescita dei nati vivi, principali anomalie citogenetiche e mutazioni. E i risultati non erano stati, appunto, eclatanti⁶⁹⁸.

Solo molti anni dopo e sulla base di indagini più sofisticate fu possibile chiarire, come vedremo, il vero significato di questi dati apparentemente "rassicuranti" e paradossali. Possiamo però sottolineare fin d'ora come la lezione forse più significativa che si sarebbe dovuto trarre da questa immane tragedia e, in particolare, dal computo delle patologie registrate tra i sopravvissuti e nella loro progenie, tutto sommato inferiori al previsto, consiste nel fatto che un'esposizione di breve durata a *dosi massive*, producendo danni cellulari (e in particolare genetici) irreversibili, determina sulla salute umana essenzialmente *effetti a breve termine*, a causa di un duplice effetto di selezione: *in primis* sulle cellule e i tessuti dei sopravvissuti, quindi sulla popolazione (i sopravvissuti rappresentano infatti, per definizione, una componente selezionata dell'intera popolazione esposta).

La principale conseguenza negativa della mancata comprensione di un tale duplice effetto selettivo fu un'altra (e tuttora poco compresa): il limitato computo totale di effetti dannosi in una popolazione esposta a dosi totali alte e la supposta assenza di grandi differenze tra soggetti più e meno esposti **ha indotto per decenni la gran parte dei ricercatori e delle stesse agenzie internazionali a sottovalutare pericolosamente i rischi delle radiazioni in genere** (in particolare per ciò che concerne gli effetti delle esposizioni protratte a dosi minori, che rappresentano, come cercheremo di dimostrare, la modalità più frequente e più pericolosa per l'intera specie umana). Ed è ormai evidente che all'origine di un tale errore di valutazione era il modo stesso in cui gli studi erano stati "disegnati", a partire dal modello LNT, sul confronto tra dosi totali assorbite, determinate (in base alla distanza dall'epicentro dell'esplosione), mediante calcoli estremamente complessi e più volte rivisitati e revisionati⁶⁹⁹.

Un'altra importante fonte di preziose informazioni epidemiche, ma anche di interpretazioni discordanti, dibattiti e controversie furono le cronache, i misteri e gli studi sul ***fall-out* radioattivo conseguente ai test nucleari** condotti dalle maggiori potenze nucleari (primi fra tutti gli Stati Uniti) negli anni della Guerra Fredda.

Ufficialmente tra il 1945 e il 1980, Stati Uniti, URSS, Regno Unito, Francia e Cina hanno fatto esplodere 504 ordigni nucleari nei test atmosferici in tredici siti. Ma contando tutti i tipi di test nucleari, la cifra salirebbe a oltre 2000 (oltre la metà dei quali eseguiti dagli USA, principalmente nel deserto del Nevada, ma anche nelle isole Marshall, in Colorado, New Mexico, Alaska...), con immissione e dispersione in atmosfera di ingenti quantità di sostanze radioattive e produzione, in pochi decenni, di una contaminazione diffusa e persistente a volte indicata come *global fall-out* (se le particelle più grandi restano nei pressi dell'esplosione, il particolato più fine e i gas vengono infatti dispersi, e il materiale radioattivo iniettato nella stratosfera, a 10 chilometri di altezza, può orbitarvi per decenni, prima di depositarsi sulla terra).

Anche se molto si è scritto sul tema e se alcuni ricercatori hanno documentato un consistente aumento di tumori maligni (in specie a carico della tiroide), gli studi sono stati in genere (e inevitabilmente) insufficienti e contraddittori. Nel 1997 un rapporto del National Cancer Institute stabilì che i quasi novanta test atmosferici nel Nevada Test Site (NTS) avevano pesantemente inquinato, in particolare negli anni 1952-57, una vasta area continentale degli Stati Uniti, diffondendo elevati livelli di radioisotopi e, in particolare di I131 (circa 5.5-6 *exa-bequerels*⁷⁰⁰: una quantità teoricamente in grado di causare un incremento di decine di migliaia tumori maligni alla tiroide)⁷⁰¹. La quantità maggiore di I131 era caduta su Nevada, Utah, Colorado, Idaho e Montana, ma l'inquinamento si era poi diffuso in tutti gli Stati, in particolare in quelli del Midwest.

A causa della sua breve emivita (circa 8 giorni) lo I131 non rimane a lungo nell'ambiente⁷⁰², ma grazie all'amplificazione attraverso le catene alimentari, dove permaneva per oltre due mesi dopo ogni test, e, soprattutto, alla sua concentrazione nel latte, l'esposizione dei giovani di età inferiore ai 12-15 anni e soprattutto dei bambini era stata, negli anni '50, consistente (tanto più che negli anni '50 quello effettivamente assunto dai bambini era in gran parte latte materno o comunque prodotto *in loco*).

Anche le ricerche condotte su popolazioni esposte al *fall out* radioattivo degli esperimenti condotti nelle isole Marshall che, occupate degli americani dal 1944-1979, furono teatro di ben 66 esperimenti (con il triste record del test di *Castle Bravo*, dell'1 marzo 1954, nel corso del quale fu registrata la dose totale di radionuclidi liberati più alta nella storia delle esplosioni nucleari), e in altri stati americani mostrarono incrementi di carcinoma tiroideo⁷⁰³. Eppure anche in questo caso i dati epidemiologici, considerati nel loro complesso, non erano particolarmente significativi. Con un'eccezione, come vedremo particolarmente importante: nei bambini esposti, negli anni del picco del *fall out*, *in utero* o nel corso dei primi mesi di vita, il tasso di incremento di cancro della tiroide era particolarmente elevato⁷⁰⁴.

Ma il chiarimento definitivo di questo e degli altri dati, a prima vista rassicuranti, provenienti da Hiroshima e dagli studi sul *fall out*, sarebbe giunto solo alcuni anni dopo, dagli **studi epidemiologici susseguenti all'incidente di Chernobyl, che dimostrarono in modo inequivocabile la maggior pericolosità di un'esposizione protratta, per via interna, transplacentare e transgenerazionale, rispetto alle esposizioni massive per via esterna**⁷⁰⁵.

● La prima lezione di Chernobyl

Siamo così giunti a quello che è considerato il più grande incidente nucleare della storia (e che speriamo rimanga tale): l'incidente del 26 aprile del 1986 nella centrale di Chernobyl, che provocò il rilascio in atmosfera di enormi quantità di materiale radioattivo e alti livelli di *fall out* non solo su Bielorussia, Ucraina, URSS, ma anche, sia pur con notevoli differenze, sull'intero continente. Numerosi studi hanno infatti mostrato il rapido propagarsi della nube radioattiva in larga parte dell'Europa nei giorni seguenti l'incidente e le quantità significative di Iodio 131, di Cesio 134 e 137 e di altri radioisotopi che si concentrarono nelle catene alimentari e, di conseguenza, negli organi e nei tessuti di milioni di esseri umani.

Secondo gli esperti gli esposti a livelli significativi di *fallout* furono oltre 20 milioni (senza contare le migliaia

di operai ed elicotteristi che per settimane lavorarono per ricoprire il nocciolo fuso, che furono direttamente esposti a radiazioni *total body*). Ma, come sempre, l'entità degli eventi fu in larga parte nascosta e ancora oggi a distanza di 25 anni la ricostruzione di quel che avvenne non è facile: tanto che capita ancora di leggere discutibili affermazioni di esperti (anche italiani) che stimano in poche decine i morti dovuti all'incidente di Chernobyl. Mentre uno scienziato stimato come Jury Bandazhevsky ha stimato in circa un milione il numero delle vittime. Difficile non pensare che, quando qualcuno parla di 60 vittime e qualcun altro di un milione di morti, uno dei due menta più o meno consapevolmente⁷⁰⁶.

La *prima* lezione che possiamo trarre dalla tragedia di Chernobyl deriva dalla notevole diversità delle patologie prodotte dal disastro, rispetto alla coorte più famosa e studiata della storia, quella dei sopravvissuti di Hiroshima e Nagasaki: mentre nei primi anni dopo il bombardamento atomico l'incremento iniziale concerneva, come detto, essenzialmente leucemie, nel caso di Chernobyl a essere interessato fu quasi esclusivamente un organo, la tiroide, appunto per la sua capacità di captare e concentrare attivamente lo iodio.

La differenza fondamentale, tra quanto era avvenuto a Hiroshima e a Chernobyl, concerneva del resto la tipologia di esposizione: la popolazione delle città nipponiche era stata investita *dall'esterno* da un'enorme quantità di radiazioni, corpuscolate (neutroni, ad alto LET) e non (raggi gamma, a basso LET), che avevano danneggiato in modo drammatico tessuti, cellule e DNA (provocando in questo rotture in buona parte stocastiche e riparazioni poco corrette e determinando, nel giro di pochi anni, un gran numero di leucemie e nei decenni successivi un incremento di tumori solidi). Quel che si ebbe a Chernobyl fu invece, soprattutto in Ucraina e Bielorussia, ma anche nel resto d'Europa, un *fall out* massiccio di radioisotopi, che si concentrarono nelle catene alimentari, determinando nella popolazione esposta una **condizione di irradiazione interna persistente** (in particolare la quantità di **I-131 nel tessuto tiroideo raggiunse, nelle aree più colpite, livelli fino a 1000-2000 volte superiore** a quello del resto del corpo⁷⁰⁷).

Non solo la IAEA, ma anche un discreto numero di scienziati furono inizialmente scettici: sia perché si pensava che gli isotopi liberati dalla centrale (I-131, Tellurio-132) che rappresentavano la componente iniziale fondamentale del *fall out* non fossero sufficientemente cancerogeni, ovviamente sulla base del modello dominante dell'azione diretta o indiretta sul DNA; sia a causa della brevità del tempo di latenza tra l'esposizione e la manifestazione dei tumori. Ma oggi il quadro appare chiaro: migliaia di casi di un unico tumore rappresentano un evento unico, senza precedenti, da cui possiamo trarre alcuni insegnamenti fondamentali non solo per quanto concerne i danni da radiazioni, ma anche per ciò che concerne le modalità stesse del genoma umano di reagire.

Già nei primi anni '90 si era visto, infatti, che il dato sanitario più significativo era rappresentato dall'**incremento dei tumori tiroidei nei bambini esposti**: o, piuttosto, di un unico tipo di tumore tiroideo in un numero crescente di bambini. Il primo *report* ufficiale parlava di 114 casi di cancro tiroideo nei bambini bielorussi in un periodo di 30 mesi, tra il 1990 e il 1992, quindi a distanza di meno di quattro anni dall'incidente⁷⁰⁸. Non si trattava inoltre di micro-carcinomi ma di cancro conclamati su un piano clinico, che nel 42% dei casi mostravano già un'invasione diretta dei tessuti adiacenti e nel 6% dei casi metastasi⁷⁰⁹. Per capire l'entità del problema bisogna ricordare che i casi di tumore infantile in Bielorussia erano stati appena 2 nel 1986, 6 nel 1989 e, appunto, oltre 100 nei 3 anni immediatamente successivi.

L'incidenza crebbe in modo esponenziale: nel 1999 i casi in Bielorussia erano saliti a 583; i casi in Ucraina negli stessi anni arrivarono a 324. L'incidenza era circa 10 volte superiore nelle zone più esposte rispetto a quelle meno esposte. Se l'incidenza normale del cancro della tiroide era di circa 1 per milione di bambini ogni anno, in Bielorussia l'incidenza era aumentata di 30 volte nel '95 e nelle zone più vicine a Chernobyl di 100 volte. Inoltre l'incremento era maggiore nei maschi, che per contro sono in genere meno soggetti delle femmine a questo tipo di tumori⁷¹⁰. La gran parte dei casi concerneva inoltre bambini in età particolarmente precoce – il picco era di 7/8 anni nei casi dal '90 al '92 e di 9/10 anni per i casi successivi – il che era evidentemente connes-

so alla maggior sensibilità dei soggetti più giovani alla carcinogenesi radio-indotta. Inoltre, paradossalmente, *per dosi molto alte il rischio di cancro diminuiva*, mentre aumentava il rischio di ipotiroidismo, a causa della distruzione del tessuto tiroideo.

Anche i dati istologici e citologici, e quelli molecolari si rivelarono significativi. Si trattava infatti di un'unica forma di cancro, nel 98% dei casi un **carcinoma papillare**, caratterizzato da un'insolita densità del tessuto neoplastico⁷¹¹. Soprattutto era implicato, nella quasi totalità dei casi, uno specifico oncogene, il **c-RET**, frequentemente implicato nella genesi del cancro tiroideo⁷¹², coinvolto in **traslocazioni difficilmente interpretabili** (sulla base del modello oggi dominante) **come “aberrazioni cromosomiche casuali (stocastiche)”**, **caso mai descrivibili** (sulla base di un modello genomico sistemico, dinamico, interattivo) **come mutazioni reattivo-adattative indotte dalle radiazioni ionizzanti**⁷¹³ (come confermato anche da studi *in vitro*⁷¹⁴ e come cercheremo di meglio chiarire nei prossimi capitoli).

● La seconda lezione di Chernobyl.

Se nei primi anni successivi all'incidente lo I¹³¹ ebbe il ruolo patogenetico e cancerogenetico di gran lunga maggiore, alla permanenza in ambiente e catene alimentari degli isotopi di più lunga emivita – Cs¹³⁴, Cs¹³⁷ e St⁹⁰ – potrebbe essere ascritto, secondo alcuni autori, un certo incremento di leucemie infantili, indubbiamente più lento e contenuto e non da tutti ammesso⁷¹⁵.

Ancora una volta il disaccordo nasce dalle differenti valutazioni dell'esposizione e della “dose assorbita”, che se calcolata in base al modello corrente sarebbe del tutto insufficiente a provocare gli aumenti di leucemie e di altre patologie segnalato. Secondo i dati ufficiali la “dose effettiva” di radiazioni assorbita dai feti sarebbe stata in Bielorussia di circa 2 mSV e nel resto d'Europa < 1 mSV (0,02 mSV in Gran Bretagna; 0,07 in Germania; 0,2 in Grecia)⁷¹⁶, un'esposizione che sulla base dei modelli di rischio tradizionali avrebbe dovuto avere effetti del tutto irrilevanti.

In un discusso, ma interessante, studio epidemiologico, invece, i dati concernenti un'ampia popolazione, composta da **oltre 2 milioni di bambini esposti in utero dopo Chernobyl**, non solo in Bielorussia e in Grecia, dove l'esposizione era stata, come detto assai consistente⁷¹⁷, ma persino in Scozia, Germania e Galles, dove l'esposizione era stata notevolmente minore⁷¹⁸, studiata a fondo sulla base dei dati di esposizione ai principali radioisotopi emessi nel corso dell'incidente (e in particolare al più persistente Cs¹³⁷) e in modo da escludere fattori di confondimento, hanno portato i ricercatori a calcolare **un incremento di oltre il 40% dei casi di leucemia infantile, nei bambini nati nel periodo di massimo picco di cesio negli alimenti** (tra l'1 luglio 1986 e il 31 dicembre 1987) **rispetto ai bambini nati prima dell'incidente** (tra l'1 dicembre '80 e il 31 dicembre '85) o **nei due anni seguenti** (31 dicembre '85-1 gennaio '88)⁷¹⁹.

I dati emersi dallo studio appaiono significativi e perfettamente coincidenti con la coorte individuata sulla base dei dati di esposizione al Cs¹³⁷. È inoltre interessante che l'eccesso di rischio non aumenti in proporzione diretta, lineare, con la dose ingerita, ma secondo un *trend* bifasico, nel senso che l'incremento appare significativo a dosi basse e si interrompe allorché l'esposizione raggiunge un certo livello (un effetto spiegabile ipotizzando che le dosi maggiori siano sufficientemente genotossiche da determinare la morte per apoptosi di gran parte delle cellule colpite: un effetto selettivo che abbiamo già segnalato in relazione ai sopravvissuti di Hiroshima).

Secondo l'autore dello studio, l'epidemiologo inglese Chris Busby, i dati mettevano ancora una volta in evidenza limiti del modello di valutazione tradizionale. Considerando che la dose media di radioattività assorbita in epoca embrio-fetale dalla coorte dei bambini studiati (calcolata sulla base della dose esterna assorbita) era di appena 0,067 mSV, Busby calcolò che l'utilizzo del modello *ICRP (International Commission on Radiological Protection)* avrebbe portato a una sottostima del rischio di circa 100-160 volte⁷²⁰. Il che dimostrerebbe, ancora una volta, quanto poco senso abbia l'utilizzo di un modello valido per esposizioni di breve durata a dosi massi-

ve, per situazioni di esposizione a piccole dosi quotidiane di radiazioni, in grado di indurre nel genoma umano (e in particolare nel genoma fetale) condizioni di instabilità genetica persistenti e progressive.

● La terza lezione di Chernobyl

La terza lezione, in prospettiva la più importante, riguarda l'effetto più temuto di una esposizione persistente di intere popolazioni a piccole dosi di radiazioni ionizzanti: il **danno genetico a carico dei gameti umani e delle generazioni successive e quella cancerogenesi transgenerazionale, teorizzata da decenni**⁷²¹ ma fino ad oggi confermata solo in casi eccezionali⁷²² e apparentemente esclusa dagli studi sui sopravvissuti di Hiroshima e Nagasaki.

Un gruppo di ricercatori russi, infatti, partendo dalla constatazione di una maggior incidenza di carcinomi tiroidei infantili in bambini non direttamente esposti (probabile conseguenza di un'esposizione genitoriale, cioè gametica), e dall'osservazione che in bambini esposti a dosi inferiori a 2 mSv e nei figli dei «liquidatori» di Chernobyl si osservavano frequentemente alti tassi di *mutazioni microsatellitari* - segno indiretto e paradigmatico di quell'*instabilità genomica* progressiva che abbiamo scoperto essere il principale effetto delle esposizioni a piccole dosi di radiazioni e non delle esposizioni di breve periodo a dosi massive, che esercitano una potente azione «contro-selettiva» sulle cellule e, in particolare, sui gameti colpiti - ha infatti studiato e dimostrato i temuti effetti (epigenetici) transgenerazionali su topini esposti in laboratorio⁷²³.

Ma per meglio comprendere il senso e il valore di questi esperimenti e degli altri dati emersi dalla ricerca molecolare in questo campo nell'ultimo decennio, per la **ridefinizione di un modello molecolare di danno da radiazioni ionizzanti**, dobbiamo tornare al grande tema del **nuovo paradigma epigenetico e genomico** al quale abbiamo fatto più volte cenno nei capitoli precedenti.

● Verso un nuovo modello di danno in radiobiologia (dalla genetica all'epigenetica)

Come detto per oltre mezzo secolo si era pensato al DNA come alla molecola base, contenente il programma genetico individuale. Solo nell'ultimo decennio alcuni autori hanno cercato di rappresentare il genoma nei termini di un *network* molecolare complesso e dinamico (vedi cap. introduttivo, parola chiave n.1) e in continua interazione con l'ambiente e l'ambiente come una fonte continua di informazioni in grado di interagire con la componente più dinamica del genoma, l'*epigenoma*, inducendola continuamente a trasformarsi e a riposizionarsi, per rispondere nel modo più efficace alle sollecitazioni e informazioni provenienti dall'ambiente e, in particolare, dal microambiente cellulare e intercellulare (cap. introduttivo: parola chiave n. 2).

In una tale rappresentazione dinamica e sistemica del genoma, la struttura tridimensionale della *cromatina* verrebbe a configurarsi come un complesso molecolare intimamente reattivo⁷²⁴, le stesse modifiche genetiche, o piuttosto genomiche e cromosomiche, andrebbero interpretate in questa luce e anche i danni e le trasformazioni genetiche, secondarie all'esposizione a radiazioni ionizzanti, inizialmente interpretate come mutazioni "stocastiche" (danni prodotti nella sequenza del DNA mediante meccanismi di tipo diretto/fisico), andrebbero viste come modifiche reattive complesse a carico dapprima dell'epigenoma (e della cromatina nel suo assetto tridimensionale) e solo in un secondo tempo della sequenza-base del DNA. **I danni immediati da alte dosi** (come nel caso del bombardamento di Hiroshima) **potrebbero essere ancora considerati come eventi essenzialmente fisici/stocastici (in gran parte dannosi e quindi eliminati insieme alle cellule colpite), ma le alterazioni di lungo periodo, prodotte da esposizioni protratte a quantità minime di radiazioni dovrebbero essere considerate** (analogamente a quanto avviene a fronte di molecole xenobiotiche o comunque potenzialmente pericolose) **trasformazioni genomiche almeno potenzialmente difensive, adattative e, soprattutto, cumulabili**⁷²⁵.

Non è possibile entrare, in questa sede, in ulteriori dettagli: possiamo limitarci a notare come alcune delle più comuni **modifiche epigenetiche reattive nei confronti delle radiazioni ionizzanti** siano già state descritte e

come alcune di queste (come la **gamma-H2AX**, indice di lesioni a doppio filamento persistenti/non correttamente riparate)⁷²⁶, siano già utilizzate come *marker* specifici di esposizione⁷²⁷.

Oltre alle modifiche fini delle “code istoniche”, il principale meccanismo di trasformazione epigenetica adattativa del genoma alle informazioni e sollecitazioni provenienti dall’ambiente, consiste nella metilazione della sequenza-base del DNA: cioè in una “marcatura” distrettuale o globale della stessa. In generale i gruppi metilici aggiunti alla citosina (una delle quattro basi costitutive del DNA) fungono da “silenziatori”, modulando l’espressione di alcuni geni-chiave che controllano le principali funzioni della cellula (il ciclo cellulare e quindi la proliferazione; la morte cellulare programmata o apoptosi; i meccanismi di riparazione e cioè di modifica attiva del DNA stesso). **E anche questo meccanismo chiave appare direttamente implicato nelle reazioni reattivo-adattative del genoma esposto a piccole dosi di radiazioni ionizzanti:** è stato, infatti, dimostrato come **i meccanismi chiave della instabilità genomica, concernenti le cellule e in particolare i gameti colpiti dalle radiazioni ionizzanti siano modifiche distrettuali o globali della metilazione del DNA** ed è facile comprendere l’importanza degli studi che dimostrano come i principali meccanismi molecolari implicati nelle modifiche genomiche da esposizione a piccole dosi, a carico tanto delle **cellule staminali** (quindi con potenzialità pro-cancerogene), quanto delle **cellule germinali** (con possibile trasmissione e amplificazione transgenerazionale del danno) siano di natura *epigenetica* e concernano, in particolare, i meccanismi enzimatici di metilazione del DNA.

I primi studi che dimostrano gli **effetti di vari tipi di radiazioni ionizzanti sull’epigenoma** risalgono a circa venti anni fa e documentano, in particolare, **una ipometilazione della sequenza-base del DNA⁷²⁸: una modifica già di per sé destabilizzante il genoma⁷²⁹ e potenzialmente pro cancerogena⁷³⁰**. Studi più recenti hanno messo a confronto gli effetti acuti e cronici delle radiazioni a basso dosaggio sulla metilazione del DNA: è stato così possibile analizzare le differenti modifiche epigenetiche indotte dalle radiazioni in vari organi e tessuti e, soprattutto, dimostrare come **l’esposizione cronica a basse dosi di radiazioni rappresenti davvero un induttore di modifiche epigenetiche più potente rispetto all’esposizione acuta⁷³¹**.

Un altro dato estremamente significativo che sta emergendo concerne **la maggior persistenza delle trasformazioni epigenetiche indotte da radiazioni, rispetto alle lesioni genetiche propriamente dette⁷³²**. In uno studio recente è stato addirittura dimostrato come **la maggior parte delle rotture del DNA (DSBs) indotte da radiazioni, un mese dopo l’esposizione, siano state riparate, mentre le modifiche epigenetiche (in particolare l’ipo-metilazione del DNA), siano risultate assai più persistenti e possano svolgere un ruolo importante nel campo della linfomagenesi e della leucemogenesi⁷³³**.

Per quanto concerne gli *effetti transgenerazionali* i risultati più interessanti sono venuti dagli studi sulle **specifiche marcature epigenetiche presenti nei tessuti dei soggetti generati da genitori esposti**. Abbiamo già accennato al fatto che vari tipi di radiazioni ionizzanti possono indurre nelle cellule germinali dei soggetti esposti a piccole dosi una condizione di instabilità genetica che può essere trasmessa alla progenie⁷³⁴, aprendo la strada alla cancerogenesi transgenerazionale⁷³⁵. Ed è stato anche **dimostrato come tali effetti siano maggiori nel caso in cui ad essere esposti sono il padre o entrambi i genitori⁷³⁶**. Il dato concernente i maggiori effetti sulla prole nel caso in cui a essere esposto sia il genitore maschio è **in perfetto accordo con la nozione della maggior sensibilità dei gameti paterni (immaturi) ad agenti chimici e fisici (epi)genotossici⁷³⁷** e rappresenta una conferma indiretta ai dati epidemiologici, lungamente contestati, concernenti l’incremento di leucemie in bambini nati da genitori maschi residenti nei dintorni degli impianti nucleari di Sellafield⁷³⁸ (mentre ha veramente poco senso contrapporre a queste evidenze i dati, scarsamente significativi, trovati negli studi concernenti la prole di soggetti esposti per motivi occupazionali, spiegabili alla luce delle diverse modalità di esposizione: prevalentemente esterna *versus* interna⁷³⁹).

Una delle principali conseguenze dell’adozione del nuovo modello, deriva proprio dalla maggior *persistenza e cumulabilità* delle trasformazioni epigenetiche: mentre il destino della gran parte delle mutazioni genetiche è

quello di essere riparate o “perdute” (insieme alle cellule indebolite perché trasformate), l’instabilità genomica è, infatti, destinata a crescere nel tempo, tanto nelle successive generazioni cellulari, che nella prole dei soggetti esposti. Discorso che vale, e a maggior ragione, per quanto concerne i soggetti esposti *in utero* e gli effetti *trans-generazionali* conseguenti all’esposizione delle cellule germinali⁷⁴⁰. Anche il dato degli effetti limitati sulle generazioni successive dell’esposizione massiva a radiazioni ionizzanti (come nel caso dei sopravvissuti ai bombardamenti di Hiroshima e Nagasaki)⁷⁴¹ trova in quanto detto ulteriori chiarimenti. Basterebbe ricordare come, **mentre i gameti geneticamente danneggiati (in gran numero nel caso di esposizione ad alte dosi) saranno in larga misura eliminati, al contrario i gameti “epi-geneticamente marcati”, non avranno alcun handicap competitivo. Inoltre le modifiche epigenetiche si andranno accumulando da una generazione all’altra. Ecco perché la prole dei soggetti cronicamente esposti a dosi relativamente minori di radiazioni subirà “paradossalmente” effetti più gravi e rischierà di trasmetterli ai propri discendenti**⁷⁴².

Tutto questo significa che anche per quanto concerne Chernobyl (e probabilmente Fukushima), le principali conseguenze potrebbero rendersi evidenti solo nei prossimi anni, e che **anche i dati frequentemente emersi di un aumento significativo di leucemie infantili nei dintorni delle centrali nucleari potrebbero trovare una spiegazione**⁷⁴³.

● I cluster leucemici nei dintorni delle centrali

Già sulla base di quanto detto fin qui la tesi (continuamente riproposta dalle principali agenzie nazionali e interna di protezione e monitoraggio) secondo cui l’incremento di leucemie nei dintorni delle centrali nucleari sarebbe assolutamente impossibile, in ragione dell’irrelevanza delle emissioni radioattive, appare assai poco accettabile. È infatti provato che le centrali emettono, anche se in modo irregolare, notevoli quantità di radionuclidi, che finiscono nelle catene alimentari: se anche è vero, dunque, che la “dose totale assorbita” per via diretta dalle popolazioni residenti nei dintorni delle centrali (valutata secondo il modello LNT) è poco significativa, se si valuta **il circuito dei radioisotopi che finiscono nelle catene alimentari, penetrano negli organismi e passano nella prole, determinando un’esposizione significativa per via interna, transplacentare e transgenerazionale**, il discorso cambia radicalmente. Ma andiamo con ordine, ricordando le tappe più significative di un allarme che dura ormai da decenni.

L’ipotesi di un possibile nesso tra residenza nei dintorni delle centrali nucleari e *clusters* di leucemie infantili risale agli anni ’50, ai tempi del tenace impegno di **Alice Stewart**⁷⁴⁴, ed è stata richiamata con discreta frequenza negli ultimi 25 anni in vari paesi⁷⁴⁵ e pervicacemente contestata dall’industria nucleare e dai suoi sostenitori.

In Germania l’eccezionale aumento dei casi di leucemia tra i bambini, 5 anni dopo l’accensione dell’impianto nucleare di Krümmel⁷⁴⁶, accompagnato da un lieve incremento di casi tra gli adulti, portò a indagini epidemiologiche sulla popolazione residente nei pressi dell’impianto: per comprendere le dimensioni del problema è utile ricordare che il numero riscontrato (9) di leucemie infantili tra il 1990 e il 1996 era superiore di un **fattore 5,0** al numero atteso (1,6) e che prima dell’accensione della centrale era stato diagnosticato nella zona un solo caso. Il ruolo fondamentale delle radiazioni era supportato, secondo gli autori dello studio, dal fatto che **embrioni, feti e bambini nei primi anni di vita hanno una più alta sensibilità alle radiazioni** e dal fatto che la **predominanza tra i maschi** corrispondeva ai dati concernenti, ad esempio, i sopravvissuti di Hiroshima, tra i quali il rapporto maschi/femmine era di 2:1 (il rapporto usuale essendo di 1,3:1)⁷⁴⁷.

In Gran Bretagna, nel 1957, si era verificato il caso emblematico di Sellafield: nel complesso nucleare, nel quale si produceva plutonio per scopi militari, un incendio nel nocciolo di un reattore a gas-grafite aveva generato una nube radioattiva imponente. I principali materiali rilasciati furono gli isotopi radioattivi di iodio, cesio, xenon e polonio; il consumo di latte fu vietato in un raggio di 50 km; la nube attraversò l’Europa intera e i morti (per leucemie e altri tumori maligni) furono stimati in 300: inutile dire che si trattò di una sottostima, se la radioattività su Londra (distante 500 km) giunse fino a 20 volte oltre il valore naturale. Nel 1983

furono dispersi nell'ambiente isotopi radioattivi di rutenio e rodio. Nel 2004 nell'impianto di riprocessamento si verificò una perdita, che perdurò per 10 mesi e fu stimata in 20 tonnellate di uranio e 160 chili di plutonio (Par. 9.7): il materiale, parzialmente riprocessato, fu drenato in vasche di stoccaggio, ma la riparazione della conduttura danneggiata non fu praticabile perché il livello di radiazioni era così alto da rendere impossibile persino l'intervento dei robot. Il reattore fu chiuso nel 2003, ma l'autorità britannica per il *decommissioning* ritiene che sarà possibile smantellarlo soltanto nel 2115, a 160 anni dall'inaugurazione.

Nei primi anni '90 furono osservati, **nei dintorni dell'impianto, alcuni clusters leucemici**⁷⁴⁸. Nel 1997 lo stesso Ministero della Salute britannico ammise che **i bambini ivi residenti presentavano un eccesso di plutonio nei denti** e il ministro in persona dovette scendere in campo per affermare che le quantità erano talmente piccole da non costituire un pericolo per la salute, suscitando la veemente reazione di un noto ematologo dell'università di Dundee che sottolineò come **anche tracce di plutonio fossero cancerogene**⁷⁴⁹.

Incredibilmente il *Comitato inglese sugli Effetti Sanitari delle Radiazioni ionizzanti* (*Committee on Medical Aspects of Radiation in the Environment, COMARE*), pur riconoscendo che eccessi di leucemie e linfomi non-Hodgkin erano stati osservati nei dintorni di alcune centrali del Regno Unito, cercò di ridimensionare l'intera vicenda con la motivazione che, **sulla base dei modelli correnti di esposizione, le emissioni radioattive delle centrali erano da stimare insufficienti a determinare il danno biologico**⁷⁵⁰: formula che rappresenta la scappatoia più utilizzata per mettere a tacere le preoccupazioni di ricercatori e cittadini e che non merita ulteriori commenti sulla base di quanto detto fin qui circa i possibili effetti dell'esposizione protratta a piccole quantità (che, come detto, non mancavano di certo nell'area), alla maggior pericolosità dell'assorbimento per via alimentare e più in generale interna. A tal proposito è anche utile ricordare come **l'esposizione indiretta, transgenerazionale, attraverso i gameti paterni, fosse quella maggiormente evidenziata negli studi epidemiologici**⁷⁵¹.

Il valore degli studi tedeschi e inglesi e quindi l'effettività del nesso casuale fu confermato da analoghi studi epidemici condotti in Francia e negli Stati Uniti. Nel 1997 Pobel e Viel avevano pubblicato uno studio caso-controllo che dimostrava un incremento di leucemia infantili nei dintorni dell'impianto di riprocessamento di La Hague, in Francia⁷⁵². Nel 2001 un altro studio retrospettivo su La Hague (anni '78-'98) confermò i risultati dello studio precedente⁷⁵³. Per quanto concerne gli Stati Uniti è sufficiente ricordare come l'epidemiologo JJ Mangano abbia dimostrato che i tassi standardizzati di mortalità per leucemia infantile erano aumentati non solo negli anni immediatamente successivi agli incidenti di Three Miles Island e Chernobyl e nelle popolazioni più esposte al *fall out* di radioisotopi, ma anche (e con tempi di latenza simili) intorno alle principali centrali nucleari americane, in perfetta **correlazione, questa volta, con i livelli di isotopi dello stronzio (Sr90) nei denti da latte dei bambini**⁷⁵⁴.

In Germania, intanto, le preoccupazioni suscitate dagli studi epidemici sopra menzionati continuarono a crescere, anche perché numerosi studi dimostrarono la presenza di radioisotopi del cesio nell'acqua piovana⁷⁵⁵; acqua potabile contaminata con isotopi del radio (Ra 226); elevati livelli di isotopi di stronzio, americio e plutonio nelle micro polveri; aberrazioni cromosomiche nei linfociti periferici dei residenti e soprattutto, dei fratelli dei bambini leucemici⁷⁵⁶. Anche se alcune revisioni di letteratura e *reports* ufficiali cercarono di ridimensionare il problema, sostenendo che gli aumenti non erano statisticamente significativi, a causa delle dimensioni insufficienti delle popolazioni esposte⁷⁵⁷, nel 2002 la pressione esercitata dall'opinione pubblica indusse il Governo tedesco a commissionare al Registro dei Tumori Infantili dell'Università di Mainz uno studio caso-controllo, che avrebbe dovuto fare il punto sull'incidenza delle leucemie e dei tumori solidi nei bambini residenti nei dintorni delle sedici centrali nucleari tedesche in attività. I risultati dello studio (anche noto con l'acronimo *KIKK*, che sta per *Kinderkrebs in der Umgebung von KernKraftwerken* = *Cancro infantile nei dintorni delle centrali nucleari*) confermarono in pieno le preoccupazioni nate dalle ricerche precedenti⁷⁵⁸. Lo studio concerneva bambini di età < 5 anni residenti in Germania negli anni 1980-2003 nei dintorni delle 16

centrali: 1.592 bambini affetti da tumori solidi e 4.735 controlli, e 593 leucemici e 1.766 controlli: numeri largamente sufficienti a conferire allo studio significatività statistica. Ma soprattutto **l'incremento documentato, di 2,2 volte per le leucemie e di 1,6 per i tumori solidi (soprattutto di origine embrionale), era di assoluto rilievo**. Inevitabilmente tali risultati ebbero una vasta eco tanto in Germania, che (almeno tra gli addetti ai lavori) in Europa e in Italia⁷⁵⁹, anche in ragione di alcuni, indiscutibili, punti di forza dello studio: l'autorevolezza e indipendenza, tanto del committente (il Governo tedesco), quanto del gruppo di ricerca impegnato (gli epidemiologi dell'università di Mainz, non sospettabili di pregiudizi anti nuclearisti); le **notevoli dimensioni della popolazione studiata**, che garantivano, al contrario di quanto avvenuto per alcuni studi precedenti la significatività statistica dei risultati; il fatto di essere uno **studio caso-controllo**, per definizione più affidabile e significativo degli studi ecologici (che comunque avevano dato spesso risultati analoghi); la messa in atto di **misure molto accurate**, in specie per ciò che concerne le distanze dagli impianti (calcolate con una approssimazione < 25m).

Successivamente alla pubblicazione dei risultati, il Ministero federale per l'Ambiente, la Conservazione della Natura e la Sicurezza Nucleare incaricò la Commissione per la Radio-Protezione di riesaminare i dati dello studio. Nel settembre 2008 **la Commissione convalidò pienamente i dati, pur ribadendo la rituale "formula assolutoria"** secondo cui, sulla base degli attuali modelli di valutazione del rischio, non è possibile dimostrare il nesso diretto tra le "emissioni correnti" degli impianti e gli effetti sanitari osservati⁷⁶⁰. Infine i dati epidemiologici del KIKK furono indirettamente confermati da due ampie metanalisi di letteratura, che avevano analizzato i dati di vari paesi (Francia, Gran Bretagna, Germania, Spagna, USA, Canada, Giappone) raggiungendo così la significatività statistica e dimostrando come nei bambini sotto i 9 anni, tanto l'incremento di morte per leucemie, quanto l'incidenza nei dintorni degli impianti nucleari fosse significativamente aumentata⁷⁶¹.

È evidente come i dati concernenti l'incremento di leucemie e tumori infantili in genere, registrati nei dintorni delle centrali, possano essere **compresi soltanto alla luce dei "nuovi modelli" di rischio per la salute delle popolazioni cronicamente esposte a piccole dosi di radiazioni ionizzanti** e, in particolare, dei **bambini e delle generazioni future**, che abbiamo cercato fin qui di illustrare e che da questi studi escono, ulteriormente confermati. È importante, a questo proposito, sottolineare come tanto gli autori dello studio KIKK, quanto i più autorevoli commentatori⁷⁶², abbiano proposto, per spiegare l'incremento dei casi di cancro infantile nei dintorni delle centrali, alcune ipotesi comprensibili solo all'interno dei "nuovi modelli": come gli effetti assai maggiori delle **esposizioni interne (per via alimentare e transgenerazionale)** a piccole dosi continue di **radionuclidi accumulati nelle catene alimentari** (a tale riguardo potrebbero essere particolarmente pericolosi i picchi di H3 e C14 registrati in occasione del rifornimento di combustibile nucleare); come la **sensibilità, infinitamente maggiore alle radiazioni ionizzanti delle cellule staminali e germinali, dei tessuti embrio-fetali**⁷⁶³ e, più in generale, dei tessuti in via di sviluppo (come avvalorato anche dall'aumentato tasso di **carcinomi embrionari**); come la **spiccata radiosensibilità del midollo e del tessuto linfatico embrio-fetali, ricchi di cellule staminali**⁷⁶⁴, che spiegherebbe anche l'alta frequenza delle alterazioni pre-leucemiche e leucemiche⁷⁶⁵.

● Una breve nota su Fukushima

Non avrebbe senso, in questa sede e a così breve distanza dall'incidente cercare di fare il punto sull'incidente di Fukushima, in assenza di qualsiasi dato sanitario sui cui basare una possibile stima dei rischi e dei danni attuali e futuri. È un dato di fatto che alcuni esperti ritengono che gli incidenti di Fukushima siano i più gravi in assoluto di tutta la storia della tecnologia nucleare, superiori persino all'incidente di Chernobyl, a causa della quantità e qualità del materiale radioattivo effettivamente rilasciato dai reattori e dalle piscine di combustibile danneggiate dal sisma e poi dallo tsunami e che anche in questo caso tanto la compagnia che gestiva l'impianto (Tepco), che il governo giapponese hanno fatto a gara per nascondere i dati e la stessa dinamica del disastro. Basterebbe ricordare, per comprendere la potenziale gravità di questo, che i reattori n. 3 e 4 erano alimentati con combustibile misto uranio-plutonio (MOX); che tale era anche il combustibile irraggiato nella piscina dell'unità 4; che a parte probabili rilasci di plutonio (su cui sono emersi solo pochi dati), il plutonio complica

il controllo della reazione a catena, e genera un numero maggiore di prodotti di fissione pericolosi; che oltre agli enormi quantitativi di acqua altamente radioattiva scaricati in mare, ce ne sono migliaia di tonnellate ancora accumulate negli edifici della centrale il cui trattamento costituisce un problema tuttora irrisolto; che gravemente lacunosi e incompleti sono stati i dati forniti sui rilasci radioattivi, la contaminazione del territorio, i rilevamenti dei radioisotopi specifici (iodio-131, cesio-137, stronzio-90, plutonio ecc.) che si depositano nell'acqua e nelle matrici vegetali ed entrano nelle catene alimentari; che a 15 giorni di distanza dall'incidente (il 27 marzo 2011) era stato annunciato ufficialmente dalla Tepco che la radioattività in acqua davanti alla centrale era di 1250 volte sopra la norma; che 3 giorni dopo si era parlato di livelli di iodio 131 di 3.350 volte e qualche giorno dopo di 4.385 volte superiori, mentre il *New York Times* segnalava che sui tetti dell'università di Berkeley, in California, erano stati registrati livelli di iodio 131 180 volte superiori a quelli consentiti; che alte concentrazioni dei suddetti radionuclidi furono rilevati, in quegli stessi giorni, lungo la penisola iberica⁷⁶⁶ e, poco dopo nelle steppe della Russia asiatica⁷⁶⁷; che migliaia di uomini e donne sono stati evacuati e non è detto che possano tornare nelle proprie case; che nelle urine di migliaia di bambini e di persone residenti a decine di chilometri dalla no-entry zone sono stati trovati prodotti radioattivi tra cui il Cesio 137; che un importante studio pubblicato su una delle riviste di *Nature* ha dimostrato nelle farfalle della zona di Fukushima **modifiche genetiche ed ereditabili e via, via più gravi da una generazione all'altra**⁷⁶⁸; che di tutto questo non si parla quasi più, come se si trattasse di un incidente minore e comunque di un incidente concluso...

CONCLUSIONI

Il principale paradosso, in tema di rischi per la salute umana connessi alle radiazioni ionizzanti consiste nel fatto che mentre da oltre un secolo se ne conosce la pericolosità, essenzialmente legata alle potenzialità mutagene e cancerogene, la gran parte degli esperti appartenenti alle maggiori agenzie internazionali per la tutela della salute umana e la radioprotezione esprimono frequentemente pareri rassicuranti non soltanto in rapporto ai possibili effetti dannosi prodotti dall'intera filiera di produzione dell'energia nucleare (che pure produce e immette ininterrottamente nell'ambiente, ormai da oltre mezzo secolo, notevoli quantità di radiazioni ionizzanti e, in particolare, di radioisotopi, alcuni dei quali caratterizzati da emivita protratta, che si accumulano lentamente ma inesorabilmente nelle catene alimentari), ma persino in relazione ai numerosi incidenti (alcuni dei quali di grandi proporzioni) che hanno caratterizzato l'intera storia delle grandi centrali nucleari.

Abbiamo cercato di dimostrare come questa situazione paradossale sia dovuta al fatto che nel corso del XX secolo è stato messo a punto, essenzialmente dai fisici, un modello di esposizione e danno, il cosiddetto *Modello lineare senza soglia-LNT*, che, essendo stato ideato per valutare gli effetti delle esposizioni acute a dosi massive, in un momento in cui le conoscenze biologiche erano ancora elementari, non è assolutamente in grado di interpretare i meccanismi del danno e i pericoli connessi a un'esposizione protratta a piccole dosi di radiazioni ionizzanti e di molecole artificiali (*xenobiotici*), in grado di agire in modo sinergico sul genoma umano, destabilizzandolo. Abbiamo poi visto come tale modello, inevitabilmente semplicistico, di valutazione del danno, si sia andato definendo negli anni in cui si analizzavano i dati epidemici provenienti dagli studi sui sopravvissuti di Hiroshima e Nagasaki e si sia rapidamente trasformato, secondo i suoi critici, in una sorta di *dogma*, che ha progressivamente impedito di riconoscere i veri rischi per la salute e di comprendere gli stessi meccanismi del danno biologico (tessutale, cellulare e genetico) prodotto dalle radiazioni ionizzanti. Abbiamo quindi mostrato come i dati epidemici e sperimentali abbiano, via, via dimostrato *i limiti del modello LNT* (tuttora universalmente utilizzato per le valutazioni di rischio e danno), che non tiene in considerazione le conoscenze più recenti, riassumibili in pochi concetti, in grado di cambiare in modo sostanziale la nostra rappresentazione degli eventi biologici prodotti **dall'esposizione a piccole dosi protratte di radiazioni: bystander effect, modifiche epigenetiche, instabilità genomica progressiva e transgenerazionale.**

Oggi l'allarme principale riguarda gli attuali livelli di esposizione collettiva - legati all'accumulo in ambiente, catene alimentari e cellule germinali di radionuclidi a lunga emivita, provenienti dal *global fall-out* derivante da decenni di test nucleari, dagli incidenti più o meno noti nelle grandi centrali (*Sellafield, Three Miles Island,*

Chernobyl, Fukushima), dalle emissioni continue (anche se irregolari) delle centrali nucleari e, più in generale, dell'intera filiera e, soprattutto, i **rischi per le generazioni future, a causa dell'instabilità genomica che sembra accumularsi nelle cellule germinali, per poi trasmettersi ed amplificarsi da una generazione all'altra.**

Dovrebbe essere ormai evidente che queste modalità di esposizione e danno rappresentano il rischio in assoluto maggiore, potendosi determinare **un'amplificazione transgenerazionale del danno biologico e, in particolare, dell'instabilità epi-genetica e delle patologie conseguenti.** Nei nuovi modelli infatti l'esposizione quotidiana a dosi anche minime di radiazioni ionizzanti agisce (sinergicamente agli altri agenti chimico-fisici diffusi in ambiente) sulle cellule staminali dei tessuti e, in particolare, sulle cellule embrio-fetali in via di differenziazione e attiva proliferazione, modificandone l'assetto epigenetico, *sprogrammando* lo sviluppo di organi e tessuti e aprendo la strada a patologie cronico-degenerative e neoplastiche destinate a manifestarsi con una latenza di anni o decenni rispetto all'esposizione; ma soprattutto sui gameti delle popolazioni esposte, determinando una instabilità epigenetica progressiva e transgenerazionale (è utile ricordare come anche gli autori degli studi epidemici più recenti, che hanno confermato l'incremento - inutilmente denunciato per decenni e regolarmente negato dalle autorità competenti, sulla base del vecchio modello LNT - di leucemie infantili nei dintorni delle centrali nucleari, abbiano proposto tale chiave interpretativa, per spiegare i risultati della propria ricerca).

È infine importante sottolineare come siano ormai numerose le prese di posizione, da parte della comunità scientifica internazionale, in favore di una revisione critica del paradigma corrente di valutazione del rischio e degli stessi modelli di patogenesi (e di cancerogenesi) dominanti. Questo ha anche portato, recentemente, alla costituzione di nuovi enti indipendenti di studio e controllo sugli effetti delle radiazioni ionizzanti, come la ECRR (European Committee on Radiation Risk)⁷⁶⁹, il CERR (Committee Examining Radiation Risk from Internal Emitters)⁷⁷⁰ e l'agenzia francese per il rischio nucleare IRSN⁷⁷¹. La stessa *Commissione Internazionale per la Protezione Radiologica (ICRP)* ha del resto ammesso che il criterio della dose assorbita e il modello LNT non sono adatti a valutare i rischi connessi a esposizione interna e protratta a piccole dosi di radiazioni ionizzanti⁷⁷².

Vogliamo però concludere questo voluminoso capitolo sottolineando che abbandonare i modelli superati di valutazione del rischio e del danno e sostituirli con modelli più adeguati è importante, ma non sufficiente. Perché un vero passo in avanti nella comprensione dei possibili rischi associati all'esposizione a radiazioni ionizzanti (e ad altri agenti inquinanti) lo faremo soltanto sostituendo agli attuali **modelli molecolari di cancerogenesi, basati**, come più volte sottolineato, su una concezione statica del DNA come molecola lineare e rigida che, se direttamente o indirettamente colpita in un punto, potrebbe andare incontro a "mutazioni stocastiche" con modelli del tutto nuovi, sistemici e dinamici.. che permettano di riconoscere nel cancro il prodotto di una **instabilità genomica progressiva**, a sua volta prodotta dall'accumulo di piccole modifiche epigenetiche, reattive a piccole dosi quotidiane di radiazioni ionizzanti e/o di molecole pro-cancerogene a cui siamo esposti fin dai primi mesi di vita. Affronteremo questi problemi nei prossimi tre capitoli.

CAPITOLO 15

PER UN NUOVO MODELLO DI CANCEROGENESI (AMBIENTALE)⁷⁷³

A new scientific truth does not triumph by convincing its opponents and making them see the light, but rather because its opponents eventually die, and a new generation grows up that is familiar with it.
Max Planck (1858 - 1947)

Nell'ultimo decennio il ruolo dei fattori epigenetici nella modulazione dell'espressione genica e nel controllo dello sviluppo ontogenetico degli organismi e dei cloni/tessuti neoplastici ha assunto notevole rilievo. Trasformazioni globali e locali dell'assetto epigenomico, legate tanto a variazioni reversibili, diffuse o localizzate (sequenze *promoter* di geni oncosoppressori) a carico della sequenza base del DNA, quanto a modifiche post-traduzionali degli istoni (*histone code*) e ai meccanismi di interferenza degli RNA minori, giocano un ruolo chiave in entrambi i processi. Ancora parzialmente oscuri sono i meccanismi che regolano, inducono e modulano le modifiche epigenetiche, in relazione alle trasformazioni del (micro)ambiente. Tra i possibili fattori di regolazione potrebbero giocare un ruolo significativo ossigeno e radicali liberi, metalli pesanti e interferenti endocrini (o più in generale *molecole mimetiche*), che svolgerebbero un ruolo di *morfògeni* nello sviluppo ontogenetico e di modulatori/perturbatori delle *pathways* biochimiche di controllo nei processi di differenziazione, proliferazione, morte cellulare programmata. Particolare interesse rivestono le recenti teorie che si propongono di integrare i due ambiti, riconoscendo nei processi di cancerogenesi una manifestazione tardiva di un'alterata programmazione fetale dello sviluppo tissutale promossa da un successivo "*stress (epi)genomico*" indotto da fattori ambientali (paradigma *neo-lamarckiano*), piuttosto che la conseguenza di mutazioni casuali vantaggiose (per il clone neoplastico) *promosse* dalla selezione naturale (paradigma *neo-darwiniano*).

Da oltre 20 anni il cancro è definito essenzialmente in termini di *malattia genetica*⁷⁷⁴. Si intende così sottolineare che non esiste patologia neoplastica senza danno genetico o cromosomico: nelle cellule che costituiscono il clone neoplastico sono **sempre** presenti, infatti, mutazioni e/o aberrazioni cromosomiche⁷⁷⁵, instabilità genetica⁷⁷⁶ e aneuploidia⁷⁷⁷, seppur, di volta in volta, diversamente interpretate e collegate tra loro dai diversi ricercatori.

Forse la prima formulazione scientifica del cancro come malattia genetica si deve a Novell, che nel 1976 scriveva: "*Si propone che la maggior parte dei tumori derivi da una singola cellula e che la progressione tumorale sia il risultato di una instabilità genetica acquisita all'interno del clone originale che consente la selezione sequenziale delle linee cellulari più aggressive. Le popolazioni di cellule tumorali appaiono geneticamente più instabili rispetto a quelle normali, forse per attivazione di specifici loci genici*⁷⁷⁸".

Definizione e limiti della *Teoria Mutazionale Somatica (SMT)*,

*“Just as Darwinian evolution depends upon random mutations giving rise to a selective advantage to individuals, it now seems clear that random mutations in the genes which control proliferation or apoptosis are responsible for cancer”*⁷⁷⁹

Nel 1991 Loeb sottolineò come nell’ambito di un qualsiasi tessuto neoplastico siano presenti migliaia di mutazioni e di anomalie cromosomiche e, rilanciando una tesi già proposta negli anni ’50 da Nordling sulla tendenza delle cellule in attiva proliferazione ad accumulare mutazioni⁷⁸⁰, formulò la teoria del *mutator phenotype*⁷⁸¹, ipotizzando **un’intrinseca tendenza del clone neoplastico ad accumulare alterazioni genetiche e cromosomiche.**

Nel 2000 **Hanahan e Weinberg** definirono, in uno dei *papers* più noti e citati in questo campo⁷⁸² e rivisitato di recente⁷⁸³, quelli che sarebbero **i caratteri fondamentali conferiti a una cellula/clone neoplastico dal progressivo accumulo di mutazioni sequenziali**: proliferazione indipendente da segnali di crescita, insensibilità ai segnali inibitori, resistenza all’apoptosi, riattivazione della *telomerasi* (e *immortalizzazione*), attivazione dell’angiogenesi, tendenza a metastatizzare, instabilità genomica (carattere *facilitatore*). Giunse così a perfetta definizione quello che è a tutt’oggi il modello cancerogenetico per eccellenza: la cosiddetta ***Teoria Mutazionale Somatica (SMT)***, secondo cui all’origine del cancro sarebbe **l’insorgenza, in una o più cellule somatiche, di mutazioni stocastiche in alcuni geni-chiave, fisiologicamente deputati al controllo della proliferazione, della morte cellulare programmata (apoptosi) e dei meccanismi di riparazione del DNA stesso: proto-oncogeni**⁷⁸⁴ **e geni oncosoppressori**⁷⁸⁵.

Non è difficile riconoscere in un tale modello la **trasposizione in ambito cellulare del classico modello evolutivistico neo-darwiniano**: fra le miriadi di mutazioni che quotidianamente danneggiano il nostro DNA, finirebbero per prevalere e stabilizzarsi (nel giro di mesi/anni) le pochissime in grado di conferire a un dato clone cellulare un vantaggio selettivo⁷⁸⁶.

Su queste basi viene anche interpretato l’incremento dei casi di cancro che caratterizza le società post-industriali, notoriamente caratterizzate da un altrettanto significativo **allungamento della vita media**: è infatti noto che il DNA si va progressivamente destabilizzando con l’età, anche a causa di un accumulo “parafisiologico” di lesioni ossidative⁷⁸⁷.

Negli ultimi anni le **critiche al modello SMT** sono state numerose e significative, anche se ancora insufficienti a costringere i suoi sostenitori a riconoscerne i limiti sostanziali.

Comincerei col ricordare che numerosi autori hanno sottolineato: come in moltissimi casi il cancro sembri essere (il prodotto di) un processo complesso che concerne un intero **tessuto** o addirittura l’intero organismo e che non sembra avere origini nelle supposte/teorizzate *mutazioni stocastiche*⁷⁸⁸; come, in particolare, il modello SMT non riconosca il ruolo-chiave svolto dal *microambiente*⁷⁸⁹ (stroma⁷⁹⁰, endotelioцитi⁷⁹¹, macrofagi attivati⁷⁹² ecc.) e dai tessuti circostanti⁷⁹³ e il percorso di **sviluppo distorto** a carico del tessuto in cui si è prodotta la degenerazione neoplastica⁷⁹⁴; come non sempre sia possibile documentare l’esistenza di *mutazioni specifiche* che esitino in una ben definita forma neoplastica⁷⁹⁵, né dimostrare una chiara relazione tra mutazioni e progressione tumorale (persino nel caso del modello-classico di Vogelstein, quello del carcinoma del colon, nessuna mutazione appare necessaria e sufficiente a determinare il passaggio tra uno stadio e l’altro della progressione neoplastica)⁷⁹⁶; come il modello SMT non sia in grado di chiarire adeguatamente l’azione degli agenti **cancerogeni non-mutageni**, né, tantomeno, di dare un’interpretazione accettabile dei complessi fenotipi tumorali e degli stessi processi cancerogenetici⁷⁹⁷.

Una delle posizioni critiche più note nei confronti della SMT è quella di Duesberg e Rasnick, i quali riconoscono nella frequente **aneuploidia** l'aberrazione carcinogenetica primaria e fondamentale alla quale farebbero seguito una **instabilità genomica** complessiva e progressiva e **mutazioni** e **aberrazioni cromosomiche** di vario genere e tipo, più o meno specifiche delle diverse forme tumorali. Questi e altri ricercatori hanno dimostrato il precoce manifestarsi di **aneuploidia** in cellule neoplastiche prive di mutazioni⁷⁹⁸ e l'alta frequenza di tumori in sindromi caratterizzate da anomalie cariotipiche (trisomie, disomie)⁷⁹⁹: basti pensare alla **sindrome di Down** caratterizzata non da un incremento di mutazioni aspecifiche, ma da **forme neoplastiche peculiari** per sede e forma, meglio interpretabili come il prodotto di un assetto genomico sbilanciato in quanto trisomico⁸⁰⁰.

Un dato particolarmente interessante, per quanto concerne la tesi di Duesberg, è che a parere del noto virologo e biologo molecolare è possibile mettere in parallelo il processo di **oncogenesi** e quello di **speciazione**, riconoscendo in un rimescolamento cromosomico la trasformazione genomica fondamentale all'origine dei due processi (il tempo di latenza tipico della gran parte di forme neoplastiche rifletterebbe l'improbabile composizione, in seguito ad alterazioni casuali del processo mitotico, di un assetto cariotipico vitale o addirittura vantaggioso per le cellule trasformate, come per le specie neoformate)⁸⁰¹.

È opportuno, tuttavia, sottolineare che la tesi "rivoluzionaria" di Duesberg (che, del resto, riprende una delle primissime ipotesi concernenti la carcinogenesi, formulata da Boveri quasi un secolo fa)⁸⁰² è tale solo in parte: nel senso che **Duesberg non rinuncia all'idea delle mutazioni stocastiche e sequenziali**, ma si limita ad anteporre cronologicamente ad esse un meccanismo non meno aleatorio, consistente appunto nell'alterazione dell'assetto cromosomico in seguito a un'alterazione del processo mitotico.

Le critiche suaccennate sollevano dubbi e pongono problemi di grande rilievo e potrebbero essere di per sé sufficienti a proporre una seria revisione critica del paradigma di cancerogenesi dominate. Ma dal nostro punto di vista esistono altre e ancor più valide ragioni per mettere in discussione il modello SMT.

La prima di queste ragioni consiste nel fatto che un tale modello **relega l'ambiente ad un ruolo tutto sommato secondario**, essenzialmente "**selettivo**" nei confronti di trasformazioni genetiche, viste come essenzialmente casuali/stocastiche. Questo fa sì che nella valutazione della gran parte di epidemiologi e ricercatori in genere che si occupano della valutazione dei rischi di cancro legati ad una esposizione diretta o indiretta ai principali fattori cancerogeni, **la percentuali dei tumori verosimilmente legati a tale esposizione** oscillerebbe tra un trascurabile 3-6%⁸⁰³, un già più accettabile 20%⁸⁰⁴ e un, dal nostro punto di vista più plausibile, 80%⁸⁰⁵. All'origine di valutazioni tanto discordanti non possono che esserci modalità e criteri assai differenti: se si sceglie di prendere in considerazione soltanto situazioni in cui il **nesso causa-effetto** tra un agente cancerogeno e un certo tipo di cancro sia provato con assoluta certezza (amianto e mesotelioma), i numeri saranno di entità trascurabile; se si dà valore a tutte quelle situazioni in cui un nesso tra esposizione e insorgenza di patologie neoplastiche sia possibile o probabile, la situazione sarà già diversa⁸⁰⁶.

Ma le maggiori differenze di valutazione dipendono essenzialmente dai **modelli di cancerogenesi** utilizzati: se, ad esempio, si pensa (come abbiamo visto nel capitolo precedente) che soltanto **esposizioni massive** ad agenti fisici (radiazioni ionizzanti) o chimici (agenti mutageni) possano indurre danni genetici e che solo in questi casi un certo tipo di cancro possa essere riconosciuto come "prodotto da cause ambientali", allora i numeri saranno trascurabili; se invece il cancro è visto come il prodotto di un **processo di lungo periodo** che si estrinseca tanto a livello tissutale, che cellulare, che molecolare (e in particolare genomico) come processo reattivo a una notevole quantità di agenti e stimoli differenti, di diversa natura (chimici, fisici...), di intensità anche minima, ma in grado di agire in modo persistente e sinergico (radiazioni ionizzanti, virus, microrganismi ed agenti chimici non mutageni, ma dotati di azione pro-flogistica e pro-cancerogena...) il discorso cambia radicalmente.

È infatti possibile ipotizzare (sulla base di quanto abbiamo visto nei capitoli precedenti) che l'esposizione a una quantità crescente di agenti chimico-fisici "nuovi sul piano bio-evolutivo" e in particolare di molecole

xenobiotiche, prodotte intenzionalmente o come scarti di processi antropici, e di **radiazioni ionizzanti e non** di varia frequenza e intensità, possa determinare una continua attivazione cellulare ed epigenetica e quindi una condizione di **stress genomico** che nel medio-lungo termine può *bypassare* e persino sovvertire i meccanismi compensatori (forniti ad esempio da alcune proteine dello *stress*) che il processo evolutivo ha messo a punto per far fronte alle trasformazioni ambientali⁸⁰⁷.

Come detto, infatti, è ormai ampiamente dimostrato come **le informazioni e sollecitazioni provenienti dall'ambiente inducano continuamente la parte più dinamica del genoma, l'epigenoma, a modificarsi** cambiando, di conseguenza, l'assetto tridimensionale della cromatina⁸⁰⁸, regolando l'accesso al DNA dei fattori di trascrizione e degli altri complessi proteici deputati alla modulazione espressiva ed evolutiva del genoma e quindi del fenotipo cellulare e come siano proprio tali **modifiche epigenetiche, in larga parte ereditabili** da una generazione cellulare all'altra, a determinare tanto il fisiologico processo di differenziazione morfo-funzionale delle cellule dei diversi tessuti, quanto le modificazioni patologiche (e in particolare neoplastiche)⁸⁰⁹.

Verso un nuovo modello/paradigma

Già da questi pochi accenni sui meccanismi epigenetici che la moderna biologia molecolare ha documentato negli ultimi anni, traspare l'esigenza e la concreta possibilità di **definire un nuovo modello "cancerogenetico"**, che potremmo, ancora una volta, definire, per semplicità, *neo-lamarckiano*, nel quale l'ambiente non si limiti a svolgere un ruolo "essenzialmente selettivo", ma sia in grado di **indurre e modulare le risposte e la trasformazione progressiva del genoma e del fenotipo, tanto in senso fisiologico che patologico**, tanto in ambito ontogenetico (individuale), che filogenetico (di specie)⁸¹⁰. Su tali basi il processo neoplastico si verrebbe a configurare come la fase finale di **un processo evolutivo (reattivo/adattativo) distorto**, all'origine del quale sarebbero alterazioni dell'assetto epi-genetico a carico delle **cellule staminali** del tessuto colpito⁸¹¹ o delle **cellule embrio-fetali** in via di differenziazione nel corso dell'ontogenesi⁸¹².

Alla base di una simile **modifica di paradigma** è evidentemente la nuova concezione, radicalmente diversa da quella tuttora dominante, del genoma e dei meccanismi di danno genetico, che abbiamo proposto a partire dal capitolo introduttivo di questa monografia, e che siamo andati via, via definendo nei capitoli successivi: anziché come una molecola essenzialmente stabile (per milioni di anni), possibile sede di **processi degenerativi essenzialmente stocastici, legati a una sorta di deperibilità intrinseca/parafisiologica e bersaglio passivo**, di agenti chimici, fisici o biologici (mutageni o meno), il DNA, o per meglio dire il **genoma**, viene infatti a configurarsi (anche nell'ambito dei processi di cancerogenesi) come un **network molecolare complesso, dinamico e interattivo al suo interno e con l'ambiente**, le cui modifiche e trasformazioni (ivi comprese le "mutazioni" e le cosiddette "aberrazioni cromosomiche" che caratterizzano il processo neoplastico) rappresentano il prodotto di un processo **attivo e reattivo di auto-ingegnerizzazione molecolare**⁸¹³.

In questo contesto trova, del resto, un senso più profondo anche il modello proposto da Duesberg, secondo cui il cancro sarebbe il prodotto di un rimescolamento cromosomico, piuttosto che di mutazioni stocastiche del DNA: si tratterebbe però di un processo di rimescolamento genomico attivo e reattivo a condizioni di *stress* molecolare. Un processo che secondo alcune ricerche recentissime potrebbe addirittura prodursi (almeno in alcuni casi) **in modo "repentino e catastrofico", configurandosi come una sorta di crisi dell'intero sistema genomico**, piuttosto che come il prodotto di un lento e progressivo accumulo di mutazioni stocastiche, descritto nel modello SMT⁸¹⁴ (il che consentirebbe, sia detto per inciso, di proporre un ulteriore **parallelismo** tra i nuovi modelli di cancerogenesi e i modelli evuzionistici post(neo)darwiniani –la cui validità è ormai quasi universalmente riconosciuta – che vedono nel processo bio-evolutivo una **sequenza di crisi** biologiche anche drammatiche, piuttosto che un progressione graduale, continua e costante)⁸¹⁵.

Già sulla base di quanto detto fin qui dovrebbe essere evidente come, nell'ambito del "nuovo paradigma", le mutazioni e aberrazioni cromosomiche procancerogene, abitualmente definite "stocastiche", non siano tali. Accettare un modello di genoma-*network* molecolare unitario, dinamico e interattivo, composto di una parte relativamente stabile, la molecola base del DNA, che contiene essenzialmente la memoria di specie e che in condizioni naturali muta lentamente, nel corso di milioni di anni, e da un complesso assai più dinamico, interattivo con l'ambiente e continuamente mutevole, definito come *epigenoma* (per cui se il DNA può esser paragonato all'*hardware*, l'epigenoma rappresenta il *software* che **dirige** le operazioni)⁸¹⁶, significa anche ri-

conoscere le modifiche a carico del genoma come eventi molecolari **attivi (reattivi, difensivi)**: in una parola adattivi a un ambiente in continua trasformazione e, in particolare, ad una esposizione sempre più massiva a molecole chimiche ed agenti fisici potenzialmente (epi)genotossici.

Lo studio delle interazioni tra ambiente ed epigenoma e delle continue trasformazioni di questo ha mostrato in che modo ciò che mangiamo e respiriamo e persino ciò che ascoltiamo, percepiamo e pensiamo⁸¹⁷ possa interferire con l'assetto epigenetico e, in alcuni casi, persino genetico⁸¹⁸ di cellule e tessuti: come cioè ogni informazione che giunge dall'ambiente possa attivare o disattivare, aprire o chiudere tutta una serie di circuiti biochimici intercellulari e intracellulari e, in ultima analisi, indurre dapprima una trasformazione praticamente immediata e reversibile del *software* epigenetico⁸¹⁹, quindi, nel medio-lungo termine e in modo potenzialmente irreversibile, dello stesso *hardware* genetico (come di recente “**modellizzato**” in studi diversi: uno dei quali, tra i più interessanti, concerne proprio la cancerogenesi)⁸²⁰.

Sappiamo, inoltre, che uno *stress* (epi)genetico protratto è destinato a produrre, nel medio-lungo termine, un'attivazione genomica sistemica, caratterizzata da una ***ipo-metilazione progressiva e globale del DNA***⁸²¹ e da una ***iper-metilazione distrettuale*** a carico delle isole CpG (normalmente ipo-metilate)⁸²² della regione del promotore di ***geni oncosoppressori***.

L'***ipometilazione globale del DNA*** produrrebbe tanto un'***instabilità genomica*** -accentuando la mobilità delle sequenze trasponibili (possibilmente deputate a un lavoro di ingegnerizzazione dello stesso genoma)⁸²³ e, ad esempio, determinando una perdita di *imprinting* di alcuni geni-chiave⁸²⁴- che ***cromosomica*** (destabilizzando i centromeri, favorendo quindi una condizione di aneuploidia e incrementando i tassi di ricombinazione: il che predispone a perdita di eterozigosi (LOH) e apre la strada a riarrangiamenti cromosomici)⁸²⁵.

L'***ipermetilazione selettiva delle isole CpG*** agisce invece bloccando l'azione di numerosi ***geni oncosoppressori*** che come p21⁸²⁶, p14, p15, p16⁸²⁷, p73⁸²⁸, Rb⁸²⁹ controllano i programmi di proliferazione cellulare; come TMS-1, regolano l'apoptosi⁸³⁰; come i componenti della BRCA *pathway*, regolano i meccanismi di riparazione del DNA⁸³¹.

I meccanismi in atto in queste modifiche genomiche sono da tempo oggetto di studio⁸³², ma a tutt'oggi sono compresi solo in parte⁸³³. Particolarmente interessanti sono le ricerche volte ***da un lato a collegare le trasformazioni ambientali e lo stress genomico, dall'altro a mettere a fuoco i modi in cui tale stress genomico favorisca la degenerazione in senso metaplastico/displastico e infine neoplastico*** di un tessuto. E in effetti negli ultimi anni numerosi studi hanno mostrato come cellule esposte a condizioni di “*stress ambientale protratto*” -che si traducono in una continua attivazione di segnali e circuiti proliferativi- vadano incontro ad una riprogrammazione epigenetica complessiva e, in particolare, alle suaccennate trasformazioni epigenetiche⁸³⁴. È stato, in particolare, dimostrato come tanto l'***ipometilazione globale del DNA***⁸³⁵, quanto la ***metilazione selettiva*** delle regioni *promoter* dei geni oncosoppressori⁸³⁶, che l'***ipometilazione*** di alcuni oncogeni⁸³⁷ siano peculiari delle lesioni pre/pro-cancerose e delle prime fasi della trasformazione neoplastica.

Una complessa serie di modifiche a carico della cromatina si verifica in cellule sottoposte a condizioni di ***stress cronico*** - come nel corso di lesioni e infiammazioni croniche a carico di un dato tessuto - che potrebbero *‘fissare* ben definite modifiche epigenetiche (ereditabili da una generazione cellulare all'altra), volte alla repressione trascrizionale di alcuni geni chiave o persino di intere reti geniche. Alcuni studi hanno dimostrato come, sebbene un simile condizionamento epigenetico (in specie a carico dei geni oncosoppressori) possa verificarsi in qualsiasi momento, esso si verifichi più frequentemente durante le ***prime fasi*** del processo neoplastico e nelle lesioni ***precancerose***.⁸³⁸ Simili eventi precoci di silenziamento genico potrebbero indurre nelle cellule uno stato di “dipendenza” da alcuni circuiti onco-genetici⁸³⁹ e questo ‘condizionamento epigenetico’ potrebbe predisporre le cellule ad un ***accumulo di mutazioni genetiche*** in questi stessi circuiti, che potrebbero indurre e/o favorire la progressione tumorale⁸⁴⁰.

Né mancano prove cliniche di simili meccanismi: può essere utile, ad esempio, ricordare come il silenziamento del gene ***CDKN2A*** consenta alle cellule epiteliali mammarie di sfuggire ai programmi di senescenza, determinando instabilità genetica ed altre proprietà pro-neoplastiche⁸⁴¹ e come l'inattivazione epigenetica dei

geni **SFPR** (*loss of the epigenetic gatekeeper*)⁸⁴² rappresenti un evento precoce in alcuni carcinomi del colon-retto⁸⁴³ contribuendo all'attivazione della *pathway* di segnalazione Wnt che è in genere riconosciuta come l'evento cancerogeno chiave di queste forme neoplastiche⁸⁴⁴.

A questo proposito possiamo ricordare come alcuni ricercatori impegnati nel campo dell'applicazione di modelli matematici ai sistemi biologici abbiano dimostrato come le cellule sottoposte a riprogrammazione epigenetica da *stress* vadano incontro a *senescenza precoce* e presentino un alto tasso di **mutazioni genetiche non casuali**, chiaramente connesse alla **riprogrammazione epigenetica da stress** (in quanto interessano le sequenze geniche “*epigeneticamente* marcate” e ne “consolidano” le specifiche trasformazioni funzionali)⁸⁴⁵. Si tratta di acquisizioni molto importanti, che dimostrerebbero come una condizione di *stress* ambientale protratto non si limiti a indurre nelle cellule una riprogrammazione epigenetica *reattiva*, ma favorisca, nel tempo, **l'insorgenza di mutazioni “guidate” e successivamente “premiata dalla selezione naturale”**.

Quale esempio emblematico di mutazioni verosimilmente attive, reattive e adattative piuttosto che *stocastiche*, possiamo prendere brevemente in esame le **traslocazioni**. Generalmente definite come **aberrazioni cromosomiche**, cioè alterazioni puramente stocastiche del DNA prodotte dalla fortuita congiunzione di sequenze geniche situate su regioni del tutto distinte e distanti del genoma, le traslocazioni possono essere infatti interpretate come esempi emblematici di **natural genetic engineering**, cioè come prodotti di specifici meccanismi reattivi che il genoma può mettere in campo per difendersi o reagire a particolari condizioni di *stress*.

Traslocazioni, inserzioni ed inversioni furono oggetto di studi approfonditi già negli anni 20-30⁸⁴⁶. Errori di ricombinazione in corso di meiosi furono descritti da Sturtevant già nel 1925⁸⁴⁷. I lavori di **H. J. Muller** (1927-8)⁸⁴⁸ ed Hanson (1928)⁸⁴⁹ sull'utilizzo di raggi X per indurre mutazioni in *Drosophila*, e quelli analoghi di Stadler sulle piante di orzo⁸⁵⁰ ebbero vasta eco tra i ricercatori. Una tra queste fu **Barbara Mc Clintock** che per prima seppe collegare alcune modifiche fenotipiche reattive a specifiche aberrazioni cromosomiche (inversioni e traslocazioni)⁸⁵¹.

È noto che **traslocazioni cromosomiche specifiche** si associano a numerose forme neoplastiche (essenzialmente **oncoematologiche**: leucemie, linfomi, mielomi), nelle quali svolgerebbero un ruolo di iniziazione tumorale⁸⁵². Una traslocazione è presente in circa la metà delle neoplasie ematologiche e in un discreto numero di tumori di origine **mesenchimale**: sarcoma di Ewing, rabdomiosarcoma etc. (è interessante notare che si tratta delle tipologie neoplastiche più frequenti nella prima **infanzia**). Recentemente si è scoperto che traslocazioni sono presenti anche in **tumori solidi**⁸⁵³ e che negli **endoteli** associati ad alcuni linfomi è possibile riconoscere le stesse traslocazioni della “neoplasia madre”⁸⁵⁴, in modo non dissimile a quanto si verifica nelle cellule dello **stroma del CA mammario**⁸⁵⁵, a ennesima riprova del fatto che una neoplasia è in genere qualcosa di più che un singolo clone di cellule degenerato⁸⁵⁶.

Vedremo in un prossimo capitolo che le **traslocazioni presenti nelle leucemie infantili** hanno in genere **origine prenatale** (nell'ambito dell'ematopoiesi fetale); danno origine a geni chimerici e quindi a proteine di fusione che svolgono un ruolo chiave nella patogenesi della malattia (in genere determinando il blocco differenziativo del clone leucemico); rappresentano *markers* tumorali stabili e specifici dei singoli cloni leucemici e *targets* potenziali di nuove terapie molecolari⁸⁵⁷.

Generalmente si ammette che, pur svolgendo un ruolo fondamentale di “iniziazione” tumorale, le traslocazioni non sarebbero sufficienti a scatenare il processo neoplastico: perché questo si verificasse sarebbero necessari ulteriori eventi genetici, che, per quanto concerne le leucemie della prima infanzia, devono essere a loro volta precoci: intrauterini nelle leucemie linfoblastiche dei primi due anni, immediatamente post-natali nelle leucemie linfatiche e mieloblastiche della seconda infanzia (con periodo di latenza oscillante tra uno e 15 anni)⁸⁵⁸. Vedremo anche come **traslocazioni funzionali** e cloni cellulari potenzialmente pre-leucemici si formino con

discreta frequenza **in feti normali** che non svilupperanno la malattia, a ulteriore riprova della necessità, per la leucemogenesi, di ulteriori modifiche genetiche⁸⁵⁹, ma anche a sostegno dell'ipotesi secondo cui le **traslocazioni** (al pari di altre modifiche genetiche) **non** sarebbero mutazioni stocastiche, bensì specifiche modifiche **reattive** a condizioni di *stress*.

A sostegno di questa ipotesi possiamo ricordare:

- il ruolo svolto nella genesi delle traslocazioni dai **processi di ri-arrangiamento tipici dei meccanismi di riparazione del DNA** o di ricombinazione genica specifici della linea linfoide⁸⁶⁰,
- la possibilità di indurre **traslocazioni specifiche** in cellule staminali in coltura⁸⁶¹,
- il fatto che la quasi totalità delle traslocazioni produce **effetti vantaggiosi** per il clone cellulare che le ospita, mediante 2 meccanismi fondamentali: la ricombinazione tra due specifici segmenti genici collocati su cromosomi distanti, anche se a volte posizionati su regioni cromosomiche contigue durante l'interfase⁸⁶², che dà origine a un gene di fusione e ad una **proteina chimerica**, dotata di alcune attività di uno o di entrambi i geni di partenza, ma notevolmente amplificate; il posizionamento di uno dei due geni a ridosso di sequenze *promoter* o *enhancer* particolarmente attive (es.: le sequenze *enhancer* del gene codificante per le catene pesanti delle Ig, tanto nella traslocazione **t(8;14)(q24;q32)** frequente nel linfoma di Burkitt, che nella **t(14;18)(q32;q21)** documentata in circa 65-80% dei casi di linfoma follicolare, che).

L'esempio forse più emblematico di traslocazione **reattiva** a una situazione di stress ambientale è dato proprio dalla suaccennata traslocazione **t(14;18)(q32;q21)**, quella iniziale (e "iniziatrice": cioè necessaria, ma non sufficiente⁸⁶³) del linfoma follicolare, in genere seguita da ulteriori alterazioni genetiche o cromosomiche che emergono via, via nel corso della malattia⁸⁶⁴.

La scoperta della t(14;18) dimostrò come i geni coinvolti nelle traslocazioni possano essere implicati (e distorcere) numerose *pathways* cellulari. Il clonaggio della t(14;18)⁸⁶⁵ dimostrò il coinvolgimento del gene **IGH** (banda q32 del cromosoma 14) e di un protooncogene fino ad allora sconosciuto, il **BCL2** (banda q21 del cromosoma 18), che permise di capire vari aspetti del processo di apoptosi, in specie di quelli inerenti alla cancerogenesi⁸⁶⁶. Ma soprattutto permise di comprendere che l'accresciuta espressione del gene anti-apoptotico **BCL-2** (e la conseguente prolungata sopravvivenza del clone cellulare) sono la diretta conseguenza della sua traslocazione nel locus codificante per le catene pesanti delle IG, probabilmente mediata da una **ricombinazione V(D)J illegittima**⁸⁶⁷ e dalla diretta esposizione alle sequenze *enhancer* di tale gene.

Ma quel che più ci interessa qui ricordare è che **la traslocazione t(14;18)(q32;q21) è anche presente in individui sani, specie se esposti a inquinamento ambientale rilevante e persistente**. Per quanto concerne la presenza di traslocazioni t(14;18) nel sangue di soggetti normali, si tratta di un dato acquisito da tempo⁸⁶⁸. Studi più recenti ne hanno però chiarito il significato, fornendo nuovi dati, estremamente interessanti. A cominciare da quelli sulla prevalenza totale di **t(14;18)(q32;q21)** che in individui sani sarebbe del 42% e **strettamente correlata all'età**⁸⁶⁹: praticamente nulla nel cordone ombelicale e nel sangue di bambini fino a 10 anni, cresce infatti lentamente fino a raggiungere il **66% dei soggetti intorno ai 50**, per poi attestarsi su questi livelli. Si tratta evidentemente di un *trend* compatibile con un incremento "reattivo": sembrerebbe trattarsi di un "riarrangiamento genico para-fisiologico" che prolunga la vita dei linfociti, piuttosto che un semplice accumulo progressivo di "aberrazioni cromosomiche" (come molti si ostinano a considerare). Tanto più che anche il numero dei cloni interessati nei singoli individui segue lo stesso *trend* di incremento progressivo, in relazione con l'età dei soggetti⁸⁷⁰.

Sulla base di questi dati si può indurre che i precursori dei B-linfociti portatori della traslocazione siano generati, a partire da una certa età e **in relazione al perdurare di un qualche "stimolo", nel midollo di soggetti normali e/o affetti da patologie differenti** da quelle linfopoietiche⁸⁷¹. È anche interessante ricordare come, registrati i dati suddetti, ci si interrogò sulla natura di tale "stimolo" e alcuni ricercatori proposero di adottare

la traslocazione $t(14;18)(q32;q21)$ quale *bio-marker* di esposizione a molecole cancerogene⁸⁷², a partire dal notevole incremento di linfomi Non Hodgkin, che tra i primi anni '70 e gli anni '90 era stato del 3-4% annuo negli States (di poco inferiore a quelli del melanoma e del cancro al polmone tra le donne, che guidavano la triste classifica)⁸⁷³.

E le conferme non tardarono, visto che successivi studi epidemiologici dimostrarono come l'esposizione occupazionale a **pesticidi** (già da tempo tra gli agenti più pesantemente indiziati nella genesi dei linfomi)⁸⁷⁴ induca nei contadini un incremento significativo di traslocazioni $t(14;18)$ e di cloni portatori del riarrangiamento BCL2-IGH, in specie nei periodi di maggior impiego di pesticidi⁸⁷⁵. E un ampio studio francese ha recentemente ribadito l'associazione tra uso di pesticidi e incremento di patologie linfoproliferative, evidenziando un incremento significativo di casi di linfomi di Hodgkin, mielomi multipli e leucemie a cellule capellute⁸⁷⁶, mentre un recente lavoro ha documentato, per la prima volta, tra i soggetti esposti a pesticidi, la diretta connessione tra frequenza di cloni portatori di traslocazione $t(14;18)$ e progressione in senso maligno⁸⁷⁷.

Un'altra importante conferma del valore della traslocazione $t(14;18)$ quale *marker* di esposizione a molecole tossiche e potenzialmente cancerogene e, indirettamente, del suo significativo "reattivo" a sollecitazioni ambientali è venuta da **Seveso**. È a tutti noto come la **TCDD** (2,3,7,8-tetracloro-p-diossina), la più tossica fra tutte le diossine, sia stato l'agente tossico disperso in ambiente in occasione dell'incidente di Seveso e tuttora responsabile di danni alla salute nelle popolazioni esposte. Il possibile ruolo cancerogeno della "diossina di Seveso" era stato riconosciuto dalla IARC, già negli anni '90⁸⁷⁸; l'esposizione prolungata a TCDD era stata associata con linfoma non-Hodgkin (NHL) in numerosi studi epidemiologici, concernenti specialmente popolazioni esposte alle emissioni di inceneritori di rifiuti solidi urbani⁸⁷⁹. Partendo da questi dati, uno dei gruppo "storici" di ricerca impegnato da decenni nello studio delle conseguenze dell'incidente di Seveso sulle popolazioni, ha potuto documentare, in uno studio pubblicato nel 2006 su *Carcinogenesis* un incremento significativo e proporzionale ai livelli plasmatici di TCDD di linfociti circolanti con traslocazione $t(14, 18)$ in soggetti sani⁸⁸⁰.

A questo punto le ragioni per cui i sostenitori del modello tradizionale, lineare del DNA e del modello carcinogenetico mutazionale-stocastico non possono facilmente accettare l'idea che due sequenze genomiche poste su cromosomi differenti si congiungano per ottenere l'espressione amplificata e persistente di una proteina (mediante la formazione di un gene di fusione o l'esposizione di un dato gene all'azione particolarmente vigorosa di un *enhancer* o *promoter* di un altro gene) dovrebbero essere già chiare. Va da sé, infatti, che una tale rappresentazione è compatibile soltanto con un **modello di genoma fluido**, concepito come **network molecolare sistemico e unitario**, composto da migliaia di sequenze geniche (codificanti) e non, interconnesse tra loro e in grado di rispondere alle informazioni e sollecitazioni provenienti dall'esterno (e dalla cellula stessa) in modo attivo e per di più coordinato e finalizzato a un preciso scopo (il mantenimento di un equilibrio dinamico della cellula, del tessuto e dell'intero organismo).

Un ruolo importante nell'ambito della cancerogenesi è infine svolto dai **network degli RNA minori**⁸⁸¹, il cui funzionamento appare alterato in molte forme di cancro⁸⁸². Gli RNA minori o microRNA (miRNAs) sono una famiglia di RNA di piccole dimensioni (18-24 nucleotidi) altamente conservata nel corso dell'evoluzione (sono cioè presenti in una forma molecolare quasi inalterata in organismi alquanto distanti sul piano filogenetico). Gravitano, per così dire, attorno al genoma e agiscono epigeneticamente, essenzialmente a livello **post-trascrizionale**, monitorando (per complementarietà di sequenza) la stabilità e la correttezza del trascritto. In tal modo, sono coinvolti nella regolazione della proliferazione cellulare e della morte cellulare programmata: non c'è quindi da stupirsi se una loro espressione alterata è di riscontro frequente in varie forme e localizzazioni neoplastiche⁸⁸³, leucemie, linfomi e tumori solidi, tra cui CA gastrico e polmonare⁸⁸⁴.

Il ruolo e le modalità d'azione dei network di microRNAs sono particolarmente complessi. In genere si afferma che i microRNAs possano agire tanto da *oncosoppressori* che da *oncogeni*.

Per quanto concerne il ruolo da **oncosoppressori**, questo può esser svolto tanto direttamente sui prodotti degli oncogeni, che indirettamente. Il primo meccanismo è stato dedotto dal fatto che in molti casi di Leucemia linfatica cronica (CLL) si ha una *delezione della regione 13q14.3*, che ospita il cluster **miR-15a/16-1**, che ha tra i propri bersagli proprio l'oncoproteina antiapoptotica *BCL-2* che, di conseguenza, risulta iper-espressa (con meccanismo diverso da quello suddescritto per il linfoma follicolare). Per quanto concerne la seconda modalità (regolazione indiretta), è stato dimostrato che alcuni membri della famiglia *miR-29* interferiscono direttamente sulle metiltransferasi *de novo* (*DNMT3A* e *DNMT3B*) e indirettamente sulle metiltransferasi di mantenimento (*DNMT1*), responsabili dello stato di metilazione delle regioni *promoter* dei geni oncosoppressori⁸⁸⁵.

Per quanto concerne il loro ruolo da **oncogeni**, questo è stato invece ricavato dal fatto che taluni microRNAs (**miR-155**, **miR-21** e il cluster **miR-17-92**) sono regolarmente iperespressi in diversi tumori⁸⁸⁶. Il **MIR-21**, in particolare, sarebbe implicato nella genesi di moltissime forme neoplastiche⁸⁸⁷: CA mammario⁸⁸⁸, ovarico⁸⁸⁹, della cervice uterina⁸⁹⁰, leiomiomi uterini⁸⁹¹, tumori cerebrali⁸⁹², CA pancreatici⁸⁹³, epatocarcinomi⁸⁹⁴, CA del colon⁸⁹⁵, LLC⁸⁹⁶, mieloma multiplo⁸⁹⁷.

Bisogna però sottolineare che non solo non è possibile suddividere in modo netto i microRNA in oncogeni e oncosoppressori, ma non sarebbe neppure corretto dedurre un loro ruolo oncogenico in caso di espressione aumentata o oncosoppressore in caso di espressione ridotta. È stato infatti dimostrato che il cluster *miR-15a/16-1*, la cui delezione abbiamo visto essere in causa in molti casi di CLL, esercita un ruolo di controllo su circa il 14% del genoma, agendo tanto su *oncogeni* come il *BCL-2*, che su geni *oncosoppressori*⁸⁹⁸ e che **molti miRNAs mostrano una duplice potenzialità d'azione**⁸⁹⁹. Inoltre il fatto che alcuni microRNAs interferiscano, come detto, con l'azione delle *metiltrasferasi* fa sì che essi possano agire tanto sul genoma nel suo insieme, quanto su singole isole CpG⁹⁰⁰.

Tutto questo risulta, evidentemente, di difficile comprensione nell'ambito di un modello di DNA o di genoma tradizionale, nel quale si tende a pensare che un'alterazione della sequenza codificante o dell'espressione genica non possa che determinare uno specifico effetto. Al contrario, **nell'ambito di un modello di "genoma fluido" è certamente più facile interpretare le suddette alterazioni come variazioni (reattive) delle normali funzioni di regolazione epigenetica** svolte dagli RNA minori ad esempio nell'ambito della differenziazione cellulare ematopoietica⁹⁰¹. Alcune possibili alterazioni nel ruolo di controllo svolto dai microRNA in questo ambito, che potrebbero essere all'origine di linfomi, leucemie e sindromi mieloproferative sono già state descritte⁹⁰².

Per quanto concerne lo specifico meccanismo su riportato, la *delezione della regione 13q14.3* e il conseguente blocco dell'azione oncosoppressiva di *miR-15a/16-1* che sembrerebbe svolgere un ruolo patogenetico-chiave in numerosi casi di CLL, potrebbe anche essere interpretato come **l'effetto negativo di un meccanismo potenzialmente difensivo, al pari di quanto abbiamo visto per la traslocazione t14-18** di Seveso: in entrambi i casi l'espressione amplificata del gene antiapoptotico *BCL-2* (che potrebbe essere stata inizialmente utile o comunque reattiva a una sostanza tossica) sarebbe diventata dannosa nel lungo termine a causa dell'attivazione eccessivamente protratta del meccanismo reattivo/difensivo (come detto del tutto diverso nei due casi).

È infine utile ricordare come anche l'azione dei microRNA, al pari degli altri meccanismi di controllo e regolazione epigenetica dell'espressione genica, eserciti un ruolo di tramite e **modulazione delle interferenze ambientali** sul genoma, in particolare nell'ambito dei processi cancerogenetici connessi all'**infiammazione cronica** di alcuni organi e tessuti⁹⁰³.

A conclusione di questo capitolo dobbiamo sottolineare come anche i dati epidemici sembrano contraddire alla radice il paradigma SMT. È infatti noto come **negli ultimi tre decenni l'aumento di neoplasie abbia interessato tutte le età (e non soltanto gli anziani), compresi i bambini e in particolare i più piccoli tra loro**

(al punto che i casi di tumore del primo anno di età sarebbero circa otto volte i “casi attesi”): una situazione inconcepibile sulla base del modello SMT (se le mutazioni fossero realmente *stocastiche*, non si spiegherebbe un incremento così rapido).

Se è vero, infatti, che il 60% dei tumori colpisce l’anziano (con 3/4 dei casi > 60 anni) e che soltanto l’1% di tutti i casi si verifica in bambini, occorre però sottolineare che in cifre assolute questo significa, vista la grande frequenza della malattia nel mondo industrializzato, che oggi in un bambino su 500 ca. viene oggi diagnosticato un cancro; che oltre 13 mila bambini si ammalano ogni anno di cancro nei soli US; che l’incremento di tumori in età pediatrica è stato negli ultimi 20 anni costante; che **nonostante i significativi miglioramenti prognostici degli ultimi decenni il cancro rappresenta ormai la prima causa di morte per malattia in età pediatrica**⁹⁰⁴.

Ma il dato in assoluto più preoccupante, come detto e come meglio vedremo, è **l’incremento delle neoplasie del primo anno di vita**: *in primis* perché, in questo caso, **non** è possibile proporre quale *causa prima* **l’incremento/accumulo nel tempo** di lesioni ossidative a carico del DNA e/o il progressivo **indebolimento** dei meccanismi di riparazione del DNA e/o le trasformazioni para-fisiologiche (ipometilazione diffusa e conseguente instabilità genomica) legate all’**invecchiamento** (*ageing*) dei tessuti; ma anche e soprattutto in quanto, come è ormai noto, la gran parte di queste neoplasie è il prodotto di un’**esposizione diretta del feto o dei genitori e dei loro gameti**⁹⁰⁵. Una evidente conferma di quanto sostenuto per decenni da Lorenzo Tomatis, circa la possibile trasmissione *transplacentare*⁹⁰⁶ - da esposizione embrio-fetale diretta a fattori fisici (es. radiazioni ionizzanti), biologici (virus) o chimici (xenobiotici)⁹⁰⁷ - e/o *trans-generazionale* - da modifiche epigenetiche o genetiche a carico dei gameti, potenzialmente accumulabili e trasmissibili da una generazione all’altra - del cancro⁹⁰⁸ (il che impone di prendere in seria considerazione l’ipotesi di una possibile *amplificazione trans-generazionale* del danno⁹⁰⁹).

CAPITOLO 16

INQUINAMENTO E TUMORI.

PROLEGOMENA ALLA CANCEROGENESI CHIMICA⁹¹⁰

*Communication is the one essential property for life. Chemicals that alter either or both levels of information flow can have consequences that may be deleterious to the individual or population*⁹¹¹

Nelle prime relazioni scientifiche sulle origini del cancro, pubblicate nel corso del XVIII secolo, l'esposizione protratta a sostanze tossiche presenti in ambiente veniva indicata come l'origine più probabile del cancro. Nel corso del XX secolo l'incidenza di neoplasie, in tutte le età della vita, è andata aumentando con impressionante regolarità, dapprima nel nord del pianeta e successivamente anche nei cosiddetti "paesi in via di sviluppo", di pari passo con la diffusione in ambiente di sostanze chimiche artificiali e sottoprodotti tossici dei moderni processi produttivi, in larga parte non bio-degradabili e quindi persistenti in ambiente, bioaccumulati nei singoli organismi, biomagnificati nelle catene trofiche. Negli ultimi decenni la definizione del cancro come *malattia genetica* (nell'ambito del più generale affermarsi di un paradigma biomedico riduzionista e determinista); la messa a punto di un modello bi-trifasico -induzione, promozione, (progressione)- del *processo cancerogenetico*; la distinzione tra fattori cancerogeni *esogeni* ed *endogeni* sembrano aver determinato una pericolosa sottovalutazione dei fattori ambientali di rischio oncogeno pregiudicando i programmi di *prevenzione primaria* che secondo alcuni tra i maggiori esperti rappresentano l'unica vera forma di prevenzione. Una miglior definizione dell'*inquinamento* ambientale come drammatica trasformazione delle *informazioni* provenienti dall'esterno, in grado di indurre, in cellule e tessuti, precise risposte biochimiche e (alla lunga) trasformazioni genetiche; una maggior comprensione dei processi di *cell signaling*, ricezione, trasduzione ed espressione genica; i dati concernenti l'incremento rapido e significativo di tumori tra i giovani e persino tra i bambini e, soprattutto, nel cosiddetto "terzo mondo" (che dimostrano la debolezza dell'idea stessa di cancro come malattia genetica *sensu stricto*) impongono una riconsiderazione critica degli attuali modelli di cancerogenesi ambientale (e in particolare chimica).

Il cancro è stato a lungo riconosciuto come una malattia determinata da esposizione prolungata a sostanze irritanti o tossiche. Ancor prima che Percival Pott pubblicasse (1775)⁹¹² la sua riflessione sulla inusuale frequenza dei tumori dello scroto negli spazzacamini inglesi, collegandola all'esposizione cronica alla fuliggine (documento universalmente riconosciuto quale pietra miliare nel campo della cancerogenesi occupazionale), un altro medico inglese aveva messo in connessione l'utilizzo del tabacco da fiuto con il cancro del naso-faringe (Hill, 1761). Era stata quindi la volta del cancro labiale nei fumatori accaniti di pipa (von Soemmering, 1795)⁹¹³ mentre, alcuni decenni dopo, un medico italiano (Rigoni-Stern, 1842) notò come il cancro della cervice uterina fosse relativamente frequente nelle donne sposate e praticamente assente tra le suore, le quali erano, per contro, colpite con maggior frequenza da tumori mammari, probabilmente a causa dei corsetti troppo rigidi che comprimevano loro il seno.

Oggi non è più così: il cancro, da alcuni decenni, è quasi universalmente considerato, come abbiamo già visto nel precedente capitolo, una sorta di *incidente genetico*, frutto di mutazioni in larga misura stocastiche, selezionate positivamente perché vantaggiose al clone cellulare che le possiede. Questa rappresentazione, eminen-

temente riduzionista e determinista, ha spinto i ricercatori di tutto il mondo a studiare a fondo i meccanismi molecolari del processo neoplastico (allo scopo di mettere a punto strategie diagnostiche sempre più sofisticate e precoci e terapie mirate, più efficaci e meno tossiche) e a sottovalutare il ruolo delle cause ambientali e, di conseguenza, l'importanza della **prevenzione primaria** (che altri esperti e scienziati hanno giustamente sottolineato essere l'unica vera forma di prevenzione)⁹¹⁴.

Eppure i dati epidemiologici, che mostrano come nel corso del XX secolo l'incidenza di neoplasie **in tutte le età della vita** sia andata **aumentando, con impressionante regolarità**, nel mondo industrializzato e soprattutto, come detto nel precedente capitolo, nel III mondo, fanno nascere molti legittimi dubbi circa la correttezza delle “nuove” interpretazioni e strategie.

Che si concordi o meno sull'utilizzo di un concetto allarmante come quello di *epidemia di cancro*⁹¹⁵, rimane il dato innegabile che **al giorno d'oggi 1 persona su 2-2,5, in Occidente, si ammala di cancro**; che il numero dei decessi per cancro, nel mondo, è stimato tra i 6 e gli 8 milioni; che, soprattutto, la mortalità per neoplasie è più che raddoppiato negli ultimi 70 anni. Non è corretto parlare di crescita esponenziale, ma certamente i dati sono preoccupanti, in specie per alcune localizzazioni e tipologie tumorali. I dati USA per gli anni '75-'90 sono a questo proposito emblematici: in specie per i carcinomi prostatico (+65%), polmonare nella donna (+65%), mammario (+30%), testicolare (+35%), renale (+25-40%), epatico (25-33%) e per i melanomi (+40-65%) e i linfomi non-Hodgkin (+35 nelle donne; +60% negli uomini).

Nelle prime pagine del suo recente libro *La storia segreta della guerra al cancro* l'epidemiologa Devra Davis pone alcune domande particolarmente incisive: perché il **cancro al cervello** è cinque volte più frequente negli States che in Giappone? Perché il tasso di **cancro ai testicoli** è aumentato del 50% in 10 anni in gran parte dei paesi industrializzati? Perché le donne contraggono oggi il **cancro al seno** in proporzione doppia rispetto alle loro nonne?⁹¹⁶.

Questi dati e queste domande spingono molti a porsi con forza il problema di una possibile, recente **sottovallutazione delle cause ambientali** del cancro. Se infatti si continua a ipotizzare che il cancro sia il prodotto di mutazioni *stocastiche*, non è facile spiegare i *trend* di costante incremento nel corso dell'ultimo secolo; né le **differenze rilevate in varie regioni del mondo** e legate a cause ambientali e stili di vita differenti, più che a cause genetiche; né l'incremento significativo di incidenza tra i giovani e persino tra i bambini (problema sul quale torneremo nel prossimo capitolo) e nei cosiddetti paesi in via di sviluppo⁹¹⁷.

Che il *trend* di incremento di molti tumori riguardi anche il cosiddetto **III mondo** è infatti ormai assodato. Anche in questo caso c'è chi attribuisce tale aumento all'acquisizione da parte delle popolazioni locali di “stili di vita” occidentali, *in primis* il fumo di tabacco, trascurando il fatto che l'aumento concerne essenzialmente tumori non direttamente connessi al tabagismo; altri riconoscono invece tanto al paradossale peggioramento delle condizioni di vita della popolazione più indigente (conseguenti alle situazioni di “sviluppo selvaggio”), quanto all'incremento di **inquinamento atmosferico e delle catene alimentari**, dovuto al traffico veicolare convulso, al progressivo **dislocamento nel terzo mondo delle industrie a più alto tasso di inquinamento e delle attività produttive più nocive**, e favorito dalla particolare debolezza (leggasi assenza) di efficaci normative e controlli ambientali e sanitari, finalizzati alla tutela dei lavoratori e di popolazioni inconsapevoli dei rischi, la vera causa di questo repentino aumento⁹¹⁸.

Che ambiente e stili di vita influenzino in modo sostanziale la cancerogenesi e quindi l'incidenza delle diverse tipologie e localizzazioni neoplastiche è stato del resto dimostrato da grandi studi epidemiologici, eseguiti a partire dai primi anni '70 su **popolazioni migranti**, che hanno notevolmente contribuito a distinguere e valutare il ruolo dei determinanti genetici da quello dei fattori ambientali. Tra questi studi notevole risonanza hanno avuto quelli sui giapponesi migrati nelle isole Hawaii nei primi decenni dello scorso secolo⁹¹⁹, in ragione delle

dimensioni significative del campione, dell'accuratezza e affidabilità nella raccolta dei dati e, a posteriori, della significatività dei risultati⁹²⁰. [Tanto più dal momento che una più attenta disamina dei dati dimostrò come, almeno per alcune neoplasie (come il CA mammario) l'incidenza nella prima generazione dei migranti rimaneva sovrapponibile a quella tipica del paese d'origine, per mutare rapidamente (adeguandosi a quella del paese di arrivo) nel corso della **seconda generazione**⁹²¹: a ulteriore dimostrazione (come cercheremo di chiarire nel prossimo capitolo) dell'impatto preponderante del mutato ambiente nelle primissime fasi della vita.]

È anche importante notare che i tessuti più colpiti dal cancro (e in maggior incremento, almeno tra gli adulti) sono quelli direttamente esposti ad agenti pro-cancerogeni ambientali e/o a molecole ormono-simili o **endocrino-mimetiche**. Un dato, quest'ultimo, particolarmente significativo, visto che gli ormoni sono i principali segnali molecolari che regolano, in specie negli organismi in via di sviluppo, i **programmi di differenziazione/proliferazione cellulare** (quelli più comunemente alterati in tutte le neoplasie); che ormai un uomo su tre è affetto da carcinoma **prostatico** e una donna su sette (ma in età sempre più giovanile) da carcinoma **mammario**⁹²²; che è praticamente impossibile stabilire mediante studi epidemiologici il nesso tra l'incremento di queste neoplasie e la diffusione sempre più ubiquitaria di decine di molecole dotate di effetti endocrino-mimetici, la cui precipua azione cancerogena consiste nell'alterare la ri-programmazione epigenetica embrio-fetale, adattativa e predittiva (*programming fetale*)⁹²³ di organi e tessuti, rendendoli, tra l'altro, più sensibili all'azione promotrice di molecole simili o differenti⁹²⁴.

Anche per ciò che concerne l'altro grande campo delle patologie neoplastiche, quello onco-ematologico, è evidente che le cellule generalmente interessate sono quelle più direttamente coinvolte nell'attivazione e coordinamento dei meccanismi di **riconoscimento/memoria di lungo termine**. E in questa prospettiva andrebbe inquadrata e valutata anche la diminuzione di alcune forme e localizzazioni neoplastiche (carcinomi gastrico e della cervice uterina) direttamente legati a flogosi persistenti, provocate e sostenute da agenti virali e/o microbici la cui azione può essere più facilmente prevenuta o contrastata.

Che negli ultimi decenni ci sia stato un notevole incremento di tumori in tutto il mondo e che tale aumento sia da mettere in relazione alla rapida trasformazione tanto degli "stili di vita" che dell'"ambiente" è dunque un dato difficilmente contestabile. Altrettanto innegabile è che questo incremento costante e progressivo è andato di pari passo con la **diffusione in ambiente di sostanze chimiche artificiali e sottoprodotti tossici dei moderni processi produttivi**: è stato, infatti, calcolato che ad un incremento del 5% della produzione industriale corrisponderebbe un incremento in ambiente di tali molecole di circa 10mila volte⁹²⁵.

Molte di queste sostanze **non sono biodegradabili e hanno un'emivita lunghissima** -il tempo di dimezzamento per il DDT e i suoi principali metaboliti è stimato, ad esempio, in 10-15 anni - ed è stato dimostrato come l'esposizione precoce a queste sostanze aumenti notevolmente il rischio di sviluppare il cancro del seno in età adulta⁹²⁶. Molte di esse si bioaccumulano negli organismi e biomagnificano nelle catene alimentari: il fattore-chiave in tal senso consiste nella loro **lipofilia**, che ne permette l'accumulo nel tessuto adiposo e il lentissimo rilascio in circolo e tessuti: un meccanismo documentato per tutta una serie di cancerogeni e pro-cancerogeni come diossine⁹²⁷, idrocarburi poli-aromatici⁹²⁸, pesticidi organo clorurati⁹²⁹, policlorobifenili (PCB), polychlorodibenzo-p-diossine e cloro-dibenzofurani⁹³⁰, ritardanti di fiamma polibromurati e ftalati⁹³¹. È evidente come la dimostrazione di un simile meccanismo rappresenti un argomento importante a favore della tesi secondo cui il principale problema, nel campo della cancerogenesi, sia rappresentato dall'**esposizione quotidiana a quantità infinitesimali di molecole pro-cancerogene e/o potenzialmente cancerogene**⁹³².

Oltre alle migliaia di **molecole di sintesi**, prodotte intenzionalmente, un gran numero di xenobiotici sono prodotti accidentali dei moderni processi produttivi e, in particolare, dell'enorme quantità di **processi di combustione** dislocati in tutto il pianeta: **il loro trasporto a grandi distanze dal luogo di produzione, da parte di agenti climatici** (venti, ciclo delle acque), **biologici** (microorganismi, catene alimentari), **circuiti commerciali**

(basti pensare al latte e ai prodotti caseari inquinati da diossine) rappresenta la vera causa della diffusione capillare di migliaia di agenti bio-tossici in tutta la biosfera e le nelle catene alimentari. Una situazione che limita notevolmente il valore degli studi epidemiologici “tradizionali”, in larga parte basati sul confronto tra popolazioni “esposte” e “non esposte” che, come ricordato in altri capitoli della presente monografia, ha indotto vari gruppi di ricerca a studiare il **Chemical Burden**, *id est* il carico globale di sostanze tossiche, e in particolare genotossiche e mutagene, presente nel nostro organismo (e in particolare in cordoni ombelicali, sangue placentare, tessuti fetali)⁹³³.

È anche utile sottolineare come oltre la metà della popolazione umana viva oggi (per la prima volta dall’inizio della sua storia) in **certi urbani**, la cui atmosfera è carica, come descritto nel capitolo 8° della presente Monografia, di sostanze potenzialmente genotossiche e cancerogene e di gas irritanti (ozono e ossidi di azoto e zolfo) che ne favoriscono l’azione pro-cancerogena. È, ad esempio, noto da tempo che la concentrazione di *benzo(a)pirene* nelle aree urbane e industrializzate è superiore di vari ordini di grandezza (fino a 100-300 ng/m³) rispetto a quella tipica delle aree rurali e montane (ca. 0,04 ng/m³) e che numerose ricerche hanno dimostrato come le alterazioni genomiche (formazione di addotti, amplificazione di proto-oncogeni, aberrazioni cromosomiche, ipometilazione del DNA, mobilitazione di sequenze mobili, instabilità genetica)⁹³⁴ siano molto più frequenti in aree particolarmente inquinate. [A proposito dell’alta concentrazione di benzo(a)pirene e altri IPA nell’aria delle nostre città è d’obbligo ricordare come alcuni recenti studi epidemiologici abbiano messo in evidenza il ruolo svolto dall’esposizione a tali sostanze durante la gravidanza (residenza in zone ad alto tasso di inquinamento) nelle madri di bambini leucemici⁹³⁵].

● I cancerogeni esogeni

Le principali molecole classificate come sicuramente cancerogene (**direttamente mutagene e/o genotossiche**) appartengono a poche “famiglie”: *idrocarburi poliaromatici (IPA)*, *N-nitrosamine*, *amine aromatiche*, *aflatossine*. Si tratta di molecole che pur essendo strutturalmente assai diverse hanno modalità d’azione (cancerogena) simile: allo stato nativo o, più spesso, in seguito a modificazioni metaboliche da parte dei nostri sistemi enzimatici, espongono gruppi elettrofili altamente reattivi (***allerte strutturali/structural alerts***)⁹³⁶, in grado di stabilire legami covalenti con i siti nucleofili (ricchi di elettroni) delle nostre principali biomolecole (acidi nucleici, proteine) formando con esse speciali composti di addizione (***adducts***) che ne distorcono la struttura, interferendo con il loro funzionamento, determinando una de-regolazione delle principali *pathways* biochimiche, disturbando la corretta replicazione del DNA, aprendo così, in vario modo, la strada alla trasformazione neoplastica.

È dai primi anni ’80 che la gran parte (circa il 75%) di queste molecole cancerogene vengono, di fatto, considerate *pro-cancerogene*⁹³⁷: paradossalmente, infatti, sono generalmente **i processi enzimatici di detossificazione** che avvengono nel nostro organismo a produrre metaboliti intermedi estremamente reattivi (***Reactive Oxygenated Intermediates***) in grado di formare gli addotti⁹³⁸.

È anche interessante notare come molti enzimi coinvolti in questi processi di detossificazione-attivazione metabolica siano **inducibili**, oltre che dagli *xenobiotici* suddetti, da parte di fattori endogeni (ormoni) ed esogeni (ambientali e dietetici)⁹³⁹. Inducibile e multiallelico è, ad esempio, il locus AH, nel quale sono localizzati i geni codificanti per le **proteine recettoriali AhR**, specifiche per IPA, molecole diossino-simili e altri xenobiotici potenzialmente cancerogeni. Le proteine AhR sono presenti nel citoplasma in forma inattiva, perché associate a proteine Hsp 90 che ne mascherano alcuni siti di dimerizzazione. Diossine, benzo(a)pirene e altri xenobiotici causano il distacco dalle Hsp 90, permettendo l’aggancio di AhR ad una proteina *carrier* (Arnt), con formazione di eterodimeri in grado di penetrare nel nucleo e di interagire col DNA: tanto AhR che Arnt possiedono infatti **motivi bHLH che permettono loro di interagire con le sequenze promoter ed enhancer di numerosi geni**⁹⁴⁰, **primi fra tutti i geni CYP1, attivandone la trascrizione** (il che, in ultima analisi, condurrà appunto alla trasformazione degli xenobiotici procancerogeni in **epossidi reattivi, elettrofili e quindi mutageni/cancerogeni**)⁹⁴¹.

Oltre che alle suaccennate *allerte strutturali* la cancerogenicità di molte molecole xenobiotiche è legata a specifiche caratteristiche strutturali e funzionali, quali il peso molecolare, la conformazione tridimensionale, la biodisponibilità e la solubilità. Spesso ancora più importante della stessa reattività è il grado di *idrofilia*, che determina tanto l'assorbimento, che il trasporto all'interno delle cellule, che le stesse interazioni molecolari.

Dovrebbe essere però ormai chiaro che, nell'ambito delle decine di migliaia di molecole xenobiotiche che pullulano nella biosfera e delle quali sappiamo assai poco, le molecole classificate come cancerogene, poiché dotate di **attività pro-cancerogena e cancerogena diretta e documentabile** sulla base di indagini tossicologiche tradizionali o di studi della relazione quantitativa struttura-attività (QSAR)⁹⁴², rappresentano soltanto la **punta dell'iceberg**.

Ma per riconoscere appieno l'entità di un simile problema bisognerà sostituire il paradigma tradizionale, basato (come già ricordato nel precedente capitolo) su una sequela di mutazioni stocastiche solo in minima parte imputabili all'azione di specifici agenti mutageni, con un **differente modello cancerogenetico, nel quale il cancro sia riconosciuto come il prodotto di un lungo processo adattativo**. Un processo nel quale **il genoma, esposto a stress protratto, sia forzato a ri-arrangiarsi continuamente, utilizzando meccanismi epigenetici** (ipometilazione globale della sequenza-base del DNA, ipermetilazione delle isole CpG di specifici siti *promoter* di geni oncosoppressori, attivazione/mobilitazione di specifiche sequenze mobili, de-metilazione di specifici proto-oncogeni, modifiche delle code istoniche e più in generale meccanismi di trasformazione dell'assetto cromatinico) in grado di produrre variazioni dell'espressione genica e quindi modifiche funzionali (reattive/adattative) del tessuto interessato... ma vada incontro, in tal modo, ad una condizione di **progressiva instabilità genomica** e, infine, a trasformazioni genetiche (in senso lato) potenzialmente irreversibili.

● I cancerogeni endogeni

Per meglio comprendere quanto sia difficile (e in un certo senso fuorviante) separare i fattori cancerogeni endogeni da quelli esogeni, può essere utile accennare brevemente al duplice ruolo - fisiologico e patologico - svolto dai *radicali liberi*.

Con questo termine si indicano alcune specie chimiche molto **reattive**, a causa della presenza di elettroni spaiati nelle orbite periferiche: una configurazione che conferisce loro la tendenza a legarsi ad altri atomi/molecole per sottrarre gli elettroni mancanti e ne determina l'estrema pericolosità in ambito biologico, per i possibili danni alle principali bio-molecole (fosfolipidi di membrana, proteine recettoriali e strutturali, fattori di trascrizione e acidi nucleici). Non bisogna però dimenticare che, proprio a causa di questa particolare reattività e dell'estrema brevità della loro vita media, **i radicali dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS)** svolgono anche funzioni importanti nell'ambito della cellula, in particolare agendo da *secondi messaggeri*. Occorre, a questo proposito, ricordare come le cellule degli organismi superiori comunichino tra loro e rispondano ai segnali esogeni secondo un preciso codice segnaletico: è a questo livello che i radicali liberi svolgono il loro ruolo, **modulando le cascate di trasduzione del segnale (processi di cell signaling⁹⁴³, signal trasduction⁹⁴⁴ ed espressione genica⁹⁴⁵) e interferendo tanto con i programmi di proliferazione cellulare, quanto con quelli di senescenza e apoptosi (agendo quindi, potenzialmente, tanto in senso pro- che anti-tumorale)**.

La produzione di radicali liberi nei nostri tessuti è dunque un evento fisiologico: essi devono però essere mantenuti entro un **bilancio relativamente costante tramite i sistemi scavenger (spazzini) costituiti da specifici enzimi (superossido-dismutasi, catalasi, glutatione-perossidasi)**. Le possibili cause di una eccessiva produzione di radicali liberi sono molte: qualsiasi situazione di **stress sistemico** (un eccesso di secrezione di glicocorticoidi induce produzione di ROS) e tissutale; tutte le condizioni di **flogosi persistente** (molte cellule coinvolte nelle reazioni immunologiche, in particolare quelle dotate di attività fagocitaria, producono notevoli quantità di ROS); l'esposizione a vari **agenti chimici** e inquinanti e in particolare a **metalli**, ma anche a **radiazioni**, inquinamento atmosferico, fumo di sigaretta, farmaci.

È dunque certamente corretto considerare i ROS tra le cause **endogene**⁹⁴⁶ di *stress* genomico e di mutazioni in geni-chiave per la stabilità del genoma, proponendoli tra le principali cause del *mutator phenotype* neoplastico⁹⁴⁷; ma è altrettanto corretto e importante riconoscere – visto che una loro produzione eccessiva è causata dai fattori “esogeni” suaccennati - l’origine **esogena** (ambientale) di molti processi patologici (infiammatori e neoplastici) mediati dai radicali liberi⁹⁴⁸.

Le principali conseguenze di un eccesso di ROS sono lo *stress ossidativo*, la *perossidazione dei lipidi*, la *deplezione delle tiolo-proteine*, l’alterazione dell’*omeostasi del calcio* e, più in generale, le suaccennate **alterazioni funzionali delle principali pathways biochimiche di trasduzione e trascrizione genica**. Proprio l’osservazione che i radicali liberi svolgono un ruolo chiave nei processi di *cell signaling* ha condotto all’identificazione e allo studio dei *target* molecolari specifici da essi attivati: in particolare i fattori di trascrizione precoci, quali le proteine attivanti [AP-1] e [AP-2], Nf-kB⁹⁴⁹ e p21ras⁹⁵⁰ che svolgono un ruolo cruciale nel controllo dei programmi di proliferazione e differenziamento cellulare, morfogenesi e flogosi⁹⁵¹.

Su queste basi appare più facilmente comprensibile anche la **stretta interdipendenza tra infiammazione cronica e cancerogenesi**: oltre a numerosi studi epidemiologici⁹⁵² e tossicologici che hanno confermato il legame diretto tra produzione di ROS e fattori di crescita da parte delle cellule coinvolte nei processi infiammatori e attivazione dei programmi proliferativi in cellule “iniziate” (grazie all’attivazione dei summenzionati fattori di trascrizione AP-1 e NF-kB)⁹⁵³, non va dimenticato che i processi infiammatori determinano a loro volta produzione e liberazione di ROS, da parte delle cellule fagocitarie, con instaurazione di un vero e proprio **circuito vizioso** e di *stress ossidativo*⁹⁵⁴.

I rapporti tra infiammazione e cancro e, in particolare, il ruolo pro-cancerogeno delle flogosi croniche sono tra gli argomenti più studiati degli ultimi anni ed è stato dimostrato **il ruolo promotore di NF-kB**. Alcuni eleganti studi su *topi knockout*, in combinazione con particolari strategie di cancerogenesi chimica, atte a provocare forme di cancro (carcinoma epatocellulare e cancro del retto) associate a flogosi cronica indotta, hanno infatti dimostrato che l’inattivazione della *pathway* segnaletica coordinata da NF-kB nelle cellule a rischio di trasformazione maligna o nelle cellule infiammatorie induce un’attenuazione del processo neoplastico⁹⁵⁵. Gli stessi studi hanno inoltre svelato un ulteriore ruolo pro-cancerogeno di Nf-kB, consistente nell’incentivare la produzione di citochine pro-cancerogene da parte delle cellule infiammatorie coinvolte⁹⁵⁶ e dimostrando l’importanza delle interazioni paracrine nello sviluppo del cancro⁹⁵⁷.

A questo punto è giocoforza ricordare ancora una volta come in tutto il mondo industrializzato molti dei fattori *esogeni* in grado di incrementare la produzione di ROS, e in particolare i metalli pesanti ed altri agenti inquinanti, siano diffusi nelle principali matrici dell’ecosfera e in particolare nell’atmosfera dei centri urbani e delle aree industriali e nelle catene alimentari e penetrino facilmente nei nostri tessuti, specie se veicolati attraverso le principali barriere biologiche dal **particolato ultrafine**, determinando, a lungo andare, una condizione di **stress ossidativo cronico** e di **flogosi microvascolare sistemica**⁹⁵⁸. È in questi termini che bisognerà riconsiderare, in futuro, l’azione pro-cancerogena svolta, sinergicamente e quotidianamente, dai sempre più numerosi e diffusi agenti inquinanti *esogeni* in grado di interagire, direttamente o con la mediazione di fattori *endogeni*, e in particolare dei *radicali liberi*, con le principali biomolecole, inducendo la lenta e progressiva trasformazione “adattativa” del genoma e promuovendo processi flogistici cronici e neoplastici⁹⁵⁹.

In conclusione potremmo riassumere brevemente quanto detto fin qui nei termini seguenti: si è lungamente pensato che la genesi del cancro fosse imputabile ad una esposizione protratta ad agenti inquinanti *esogeni*; si è quindi passati ad una rappresentazione del processo cancerogenetico come essenzialmente **endogeno**, cioè dovuto ad alterazioni genetiche, in larga misura accidentali. A questo punto numerose considerazioni, tanto di ordine epidemiologico, che di ordine biologico, inducono a pensare che **la contrapposizione tra fattori cancerogenetici esogeni ed endogeni è stata fuorviante** e che sussistano argomenti consistenti per la ricerca

di un **nuovo modello cancerogenetico**, nel quale le sollecitazioni provenienti dall'esterno e le trasformazioni molecolari a carico delle principali biomolecole siano riconosciute come strettamente interconnesse e interdipendenti. Un modello nel quale: le informazioni, provenienti dall'ambiente esterno (*stimoli esogeni*) e variamente modulate e trasformate dal (*micro*)ambiente interno, pervenute alla superficie di ogni singola cellula, vengano processate attraverso un *network* complesso di *pathways* segnaletiche e tradotte in precisi *inputs* biochimici in grado di indurre il genoma a rimodellarsi continuamente [e ancora una volta, emerge l'esigenza di considerare il genoma come un *network* unitario e complesso di molecole (*DNA + epigenoma*) in continua interazione dinamica tra loro e in continua trasformazione reattiva e adattativa in risposta alle informazioni provenienti dall'esterno].

In questa luce il cancro, al pari di qualsiasi trasformazione di ordine fisiologico e, *a fortiori*, di ordine patologico del nostro fenotipo, dovrebbe essere considerato (il prodotto di) **un processo attivo-adattativo delle singole cellule e dell'intero organismo** alle informazioni provenienti dal mondo esterno: un processo che ha inizio nelle primissime fasi dello sviluppo embrio-fetale - di gran lunga le più importanti nel definire le modalità dell'interazione tra ambiente e cellule, tessuti, organismi - e che si protrae per tutta la vita.

Quanto abbozzato nei due capitoli che abbiamo dedicato all'argomento, dovrebbe contribuire alla comprensione di come **l'accettazione di un nuovo modello cancerogenetico, epi-genetico e adattativo, basato sul riconoscimento di un ruolo attivo/induttivo rilevante dell'ambiente** e, in particolare, dell'inquinamento ambientale, potrebbe aiutarci a chiarire molti dei problemi fin qui enunciati e ci costringerebbe a riconoscere nella **prevenzione primaria** (*id est* nella radicale riduzione dell'esposizione delle popolazioni a migliaia di molecole ed agenti in grado di indurre - direttamente o, assai più spesso indirettamente - uno *stress genomico* protratto e una modifica reattiva di cellule e tessuti), l'unica possibilità di evitare **un ulteriore incremento di casi di cancro e un'ulteriore riduzione dell'età di insorgenza**.

Un problema, quest'ultimo, che preoccupa e allarma, e che prenderemo più attentamente in considerazione nel prossimo capitolo.

IL PROBLEMA DELL'INCREMENTO DEI TUMORI INFANTILI⁹⁶⁰

Con particolare riferimento al tema della cancerogenesi transplacentare e transgenerazionale

Generalmente si pensa al cancro come ad una malattia della terza età e si sostiene che il *trend* continuo di incremento di tumori nel corso del XX secolo in tutti i paesi industrializzati possa essere spiegato mediante la teoria dell'accumulo progressivo di lesioni genetiche stocastiche e il miglioramento continuo delle nostre capacità diagnostiche. Troppo spesso si sottovaluta il fatto che l'aumento riguarda praticamente tutte le età e, in specie negli ultimi decenni, i giovani: le recenti segnalazioni di un incremento significativo di tumori infantili in Europa e specialmente in Italia hanno destato apprensione, anche perché impongono una riconsiderazione critica del modello dominante di cancerogenesi. I principali meccanismi che potrebbero essere implicati in questo aumento sono: l'esposizione diretta dell'embrione/feto ad agenti fisici o, per *trasmissione transplacentare*, ad agenti biologici (virus) o chimici in grado di danneggiare direttamente il DNA fetale o di indurre alterazioni epigenetiche nei tessuti fetali (*programming fetale*) o la *trasmissione transgenerazionale* di "signature" epigenetiche a carico dei gameti. Riconoscere l'importanza di questi meccanismi significherebbe, anche alla luce di quanto detto nei precedenti capitoli, non soltanto riconoscere il ruolo, certamente sottovalutato, dell'inquinamento ambientale nella genesi e nell'incremento progressivo dei casi di cancro, ma anche ipotizzare che la fase di "iniziazione" tumorale rischia di verificarsi sempre più precocemente e che i *trend* di incremento del cancro nella primissima infanzia rappresentano un segnale di allarme, in relazione alla possibile amplificazione transgenerazionale delle modifiche (epi)genetiche/programmatiche.

In genere si afferma che i tumori infantili sono una patologia rara. Bisogna però intendersi. È opportuno ricordare come, in termini assoluti, di cancro si ammala un bambino su 5-600 e che oltre 12 mila bambini si ammalano di cancro ogni anno nei soli Stati Uniti d'America⁹⁶¹; come nonostante i significativi miglioramenti prognostici degli ultimi decenni il cancro rappresenti la prima causa di morte per malattia in età pediatrica⁹⁶²; come anche in questa fascia d'età, negli ultimi decenni, si assista in tutto il mondo a un incremento della patologia tumorale significativo e costante. Il recente *Surveillance, Epidemiology, and End Results program data* per il periodo 1992-2004 documenta chiaramente questo *trend*⁹⁶³.

Se i dati degli Stati Uniti sono preoccupanti, in Europa e soprattutto in Italia la situazione non è migliore, anzi: come risulta chiaramente dal recente progetto *ACCIS (Automated Childhood Cancer Information System)* - un ampio monitoraggio condotto dalla IARC su 63 registri oncologici di 19 paesi europei, per un totale di oltre 130 mila tumori di tutti i tipi (113 mila pediatrici e 18 mila di età adolescenziale). Un primo *report* del progetto, pubblicato su *Lancet* nel 2004, evidenziò un incremento annuo dell'1-1,5 % per tutte le neoplasie (con aumenti più marcati per alcuni linfomi, sarcomi dei tessuti molli, tumori delle cellule germinali e del sistema nervoso)⁹⁶⁴.

Queste cifre, in un primo tempo accolte con qualche perplessità dalla comunità scientifica internazionale, furono pienamente confermate dalla successiva revisione (la più completa a tutt'oggi) dei dati emersi dallo stesso studio, che costituisce il più ampio *database* europeo sul cancro, pubblicata due anni dopo, in un nu-

mero monografico, dall'*European Journal of Cancer*: 18 articoli in tutto, che contengono l'analisi dettagliata dei dati sui tassi di incidenza e sui *trends* di prevalenza e sopravvivenza delle principali neoplasie infantili e adolescenziali. Non è possibile approfondire, in questa sede, l'argomento: può essere sufficiente sottolineare come in 20 anni (tra il 1978 e il 1997) si sia assistito, in Europa, ad un incremento medio generale di neoplasie ad insorgenza in età pediatrica dell'1,1% annuo (ma del 2% annuo circa nel primo anno di vita e dell'1,3% in età adolescenziale)⁹⁶⁵.

Tali dati non devono essere sottovalutati per almeno 4 ragioni: le **notevoli dimensioni** del campione in studio (si è trattato di un grande studio multicentrico, finanziato dalla Comunità Europea, con la partecipazione dei migliori registri tumori europei di popolazione); il **tempo di osservazione** sufficientemente protratto (20 anni); l'aumento significativo (>1%) per **tutte** le patologie tumorali nel loro insieme; l'incremento massimo nel **primo anno di età**, che depone per un'origine **transplacentare** (da esposizione materno-fetale ad agenti pro-cancerogeni) o addirittura **transgenerazionale** (epigenetica/gametica); il **concomitante incremento (più volte ricordato in questa monografia)**, in tutto il Nord del mondo, di tutte quelle patologie cronico-degenerative e/o infiammatorie (endocrino-metaboliche: obesità, diabete 2; immunomediate: allergie, malattie autoimmuni; del neuro sviluppo e neuro-degenerative: autismo, ADHD, malattia di Alzheimer) per le quali è stato ipotizzato il ruolo patogenetico degli stessi meccanismi di disregolazione epigenetica precoce (*fetal programming*) a carico di vari organi e tessuti (*Developmental Origins of Health and Diseases*)⁹⁶⁶.

Se possibile ancora peggiori sono state, negli scorsi anni, le notizie riguardanti i bambini italiani. I dati del *Rapporto AIRTUM* 2008 sui tumori infantili, hanno infatti dimostrato come **i dati di incidenza e gli andamenti temporali siano in Italia peggiori che negli altri paesi europei e negli USA** (il che, sia detto per inciso, toglie valore all'ipotetico fattore "miglioramento diagnostico"). Forse il modo migliore di inquadrare e sintetizzare tali dati consiste nel citare alcuni passi tratti dalla sintesi finale del *Rapporto*: "*Il tasso di incidenza per tutti i tumori pediatrici in Italia (175,4 casi per milione/anno nel bambino, 270,3 casi nell'adolescente) è più alto di quello rilevato negli anni novanta negli Stati Uniti (158) e in Europa (140).. In Germania è 141, in Francia è 138... Tra il 1988 e il 2002 si è osservato un aumento della frequenza (per tutti i tumori) del 2% annuo passando da 146,9 casi nel periodo 1988-1992 a 176,0 casi nel periodo 1998-2002. L'incremento più consistente riguarda i bambini al di sotto di un anno di età (+3,2%), seguiti da quelli di età compresa tra i 10 e i 14 anni (+2,4%). Tutti e tre i tumori più frequenti nei bambini sono in aumento: le leucemie (+1,6% annuo), i tumori del sistema nervoso centrale (+2,0% annuo) e soprattutto i linfomi (+4,6% anno)*"⁹⁶⁷.

Vero è che negli ultimi due anni sarebbe emerso, in alcune aree del territorio nazionale, un **rallentamento di questi trends di crescita**⁹⁶⁸. Ma è altrettanto vero che l'incremento suddescritto concerne tutte le macroaree europee considerate (Nord, Sud, Est, Ovest e Gran Bretagna e Irlanda) e che il dislivello tra i dati di incidenza italiani e quelli degli altri paesi europei (come detto intorno ai 170 casi/milione in Italia rispetto vs. circa 140/milione in Germania e in Francia) permane significativo e che un incremento abbastanza costante per oltre 20 anni non può essere contraddetto da dati concernenti un periodo di tempo assai più breve.

Insomma le ragioni di preoccupazione ci sono e richiedono uno sforzo maggiore per individuare le probabili cause: una ricerca che, in questo campo, è resa particolarmente difficile (per certi versi ancor più che negli altri fin qui analizzati), dagli attuali modelli cancerogenetici (di cui abbiamo detto nei due capitoli precedenti) che hanno portato epidemiologici ed oncoematologi ad affermare che se il 5-10 % dei tumori pediatrici ha una chiara origine genetica, meno del 5% ha una correlazione certa con esposizioni ambientali (infezioni, agenti chimici o fisici)⁹⁶⁹. Secondo la gran parte degli autori solo per le **radiazioni ionizzanti** ci sarebbe sufficiente evidenza, ma si tratterebbe di casi piuttosto infrequenti (per quanto concerne i limiti di una tale valutazione crediamo sia sufficiente quanto abbiamo discusso nel capitolo 14, dedicato alle radiazioni ionizzanti). Comunque sia, per la gran parte degli esperti, la causa del 90% dei tumori infantili è ignota: generalmente ci si limita, anche in questo caso, ad affermare che forse una certa percentuale di questi casi potrà essere spiegata in futuro

dall'interazione tra il particolare corredo genetico del singolo soggetto e specifici fattori ambientali (nutrizionali, farmacologici ecc.), secondo un modello che abbiamo già cercato di dimostrare astratto e riduttivo.

Non potremo in questa sede proporre una rilettura sistematica dell'argomento. Ci limiteremo a notare che si tratta di un campo particolarmente utile per meglio intendere come tutto cambi se, per interpretare i dati suddetti, si utilizza il nuovo modello cancerogenetico, che sembra lentamente prendere forma, basato sulle semplici nozioni esposte nei capitoli precedenti e concernenti: il lento **accumulo di migliaia di molecole epi-genotossiche** (cioè **non mutagene, ma in grado di destabilizzare progressivamente il genoma**) in atmosfera, biosfera, catene alimentari e tessuti umani; la trasmissione di una notevole quantità di queste sostanze dalla madre al feto per **via trans-placentare**; il possibile **lento accumulo di modifiche epigenetiche nei gameti**, sia materni, che paterni; la particolare **sensibilità dell'epigenoma embrio-fetale** (cioè delle cellule in via di differenziazione) all'azione di queste sostanze e, al contempo, agli effetti delle radiazioni ionizzanti e non che ci circondano; il possibile accumulo progressivo di modifiche epigenetiche tanto nelle cellule direttamente interessate, quanto in altre cellule anche distanti (vedi, in particolare, quanto detto a proposito dell'**effetto bystander**); il **lungo periodo di latenza** (decenni o addirittura generazioni) tra le suddette modifiche epigenetiche reattivo-adattative (*fetal programming*) e le manifestazioni cliniche ecc.

Cominciamo col vedere perché e in che senso proprio l'aumento dei tumori infantili (come detto del tutto inatteso, sulla base del modello cancerogenetico dominante) imponga modalità di valutazione e interpretazione nuove.

Prima di tutto è evidente che, nei bambini, non è possibile parlare di un accumulo nel tempo di lesioni ossidative a carico del DNA e/o di un progressivo indebolimento dei meccanismi di riparazione del DNA e/o di trasformazioni para-fisiologiche (es: ipometilazione diffusa e instabilità epi-genomica) legate all'invecchiamento (*ageing*) dei tessuti⁹⁷⁰. Un altro dato significativo consiste nel fatto che **le neoplasie tipiche nei bambini non sono le stesse che nell'adulto**: mentre in quest'ultimo a prevalere sono, e di gran lunga, i tumori a partenza dagli epitelii (carcinomi), nei bambini sono assai più frequenti leucemie e linfomi (45% circa), tumori del SNC (22%), tumori di origine connettivale (sarcomi 15%) ed embrionaria (neuroblastoma: 8%).

Un terzo carattere distintivo delle neoplasie infantili consiste nel fatto che in una discreta percentuale dei casi (in particolare per quelli ad insorgenza nel corso del primo anno di età, la fascia d'età che ha registrato il maggior incremento) la loro origine è, in genere, prenatale e potrebbe essere la conseguenza di un'esposizione **transplacentare** ad agenti fisici (X-rays) o biologici (virus) o chimici (xenobiotici) o addirittura **transgenerazionale** (da modifiche epigenetiche o genetiche a carico dei gameti, trasmissibili da una generazione all'altra: il che impone, come detto, di prendere in seria considerazione l'ipotesi di una possibile amplificazione trans-generazionale⁹⁷¹).

Notevole rilievo acquistano, in questo contesto, i dati provenienti dagli studi dell'epidemiologo inglese Ernest Knox il quale, dopo aver passato in rassegna i luoghi di residenza dei bambini morti di cancro in Gran Bretagna tra il 1955 e il 1980, ha mostrato come il rischio aumenti in modo significativo non solo e non tanto per i bambini nati e cresciuti vicino a strade trafficate, pompe di benzina, stazioni di autobus e impianti industriali, quanto e soprattutto per i figli di **donne residenti in tali aree durante il periodo della gravidanza**⁹⁷². Sarebbe difficile negare che tanto i dati complessivi del progetto *ACCIS*, quanto gli studi di Knox che mettono l'accento sul nesso tra inquinamento atmosferico e cancro (secondo Knox un quarto delle neoplasie infantili avrebbe quest'origine), portano un notevole contributo alle tesi, come detto sostenute per decenni da Tomatis, circa la possibile trasmissione transplacentare e/o trans-generazionale di alcune forme di cancro⁹⁷³.

Origini Fetali e Trasmissione Transgenerazionale del Cancro

Il fatto che l'esposizione dei gameti o dell'embrione e del feto, in particolari fasi dello sviluppo ontogenetico (*finestre di esposizione*), a numerose sostanze inquinanti, potrebbe aprire la strada a patologie neoplastiche (oltre che, come visto, a malattie cronico-degenerative, endocrino-metaboliche etc.) destinate a manifestarsi

soltanto in età adulta è stato del resto ipotizzato già oltre venti anni, nell'ambito della teoria dell'*Origine embrio-fetale delle Malattie dell'Adulto* (quindi di un alterato *programming* fetale dei tessuti) e successivamente collegato a un'eccessiva esposizione *in utero* dei tessuti embrio-fetali in via di formazione agli estrogeni materni⁹⁷⁴ o a interferenti endocrini come il Bisfenolo A in animali da esperimento⁹⁷⁵ o il Dietilstilbestrolo (DES) anche in ambito umano⁹⁷⁶.

Questo equivale a dire che la “classica” fase di **iniziazione neoplastica** andrebbe, almeno in un certo numero di casi di neoplasie infantili, retrodatata al periodo prenatale (al periodo, cioè, della programmazione epigenetica di tessuti e organi) o addirittura pre-zigotico.

A ben vedere anche la tesi di una probabile origine del cancro da particolari **cellule staminali**, dapprima teorizzata⁹⁷⁷, poi confermata **praticamente in tutte le principali localizzazioni neoplastiche**⁹⁷⁸ potrebbe ricollegarsi all'ipotesi di un'origine (epigenetica) embrio-fetale: nel senso che almeno una parte delle **cellule staminali in dotazione a un determinato tessuto potrebbe esser stata epigeneticamente marcata/programmata in utero** in risposta a particolari situazioni nutrizionali (carenziali o comunque poco idonee a un corretto sviluppo fetale) o a esposizioni a molecole potenzialmente tossiche e per così dire “**sensibilizzata**” nei confronti della stessa sostanza pro-cancerogena che fungerebbe così da agente *promotore* in caso di successiva esposizione⁹⁷⁹. A favore dell'ipotesi secondo cui **la DOHaD “anticiperebbe” la fase di iniziazione tumorale al periodo embrio-fetale**, stanno: il notevole incremento di frequenza delle neoplasie insorte nei primi due anni di vita; la somiglianza tra le cellule leucemiche e di altri tumori infantili (Wilms, neuroblastoma) e le cellule embrio-fetali⁹⁸⁰; la frequente associazione tra patologie malformative e neoplastiche⁹⁸¹; il sempre più frequente riscontro alla diagnosi prenatale di patologie neoplastiche⁹⁸² e, in particolare, la dimostrazione di **traslocazioni e fusioni geniche pre-leucemiche in neonati sani**⁹⁸³, destinati con variabile frequenza a sviluppare forme leucemiche⁹⁸⁴; la frequente origine “clonale” di forme leucemiche identiche (anche sul piano molecolare) in gemelli monozigoti⁹⁸⁵, in genere interpretata come conseguenza di una “**metastatizzazione interfetale**” già teorizzata negli anni '70⁹⁸⁶ e recentemente confermata – almeno a parere di alcuni ricercatori - anche sul piano molecolare mediante la dimostrazione di identici *breakpoints* nelle specifiche traslocazioni delle singole coppie di gemelli, tanto nelle leucemie infantili precoci, coinvolgenti il gene MLL⁹⁸⁷, che nelle forme leucemiche dell'infanzia caratterizzate dalla traslocazione t(12-21), con espressione del gene di fusione TEL-AML1⁹⁸⁸.

Quanto detto fin qui rappresenta uno stimolo ulteriore allo studio dei nuovi paradigmi cancerogenetici, che propendono per **un'origine sempre più precoce del processo neoplastico, riconoscendo in esso la conseguenza di un processo di sviluppo imperfetto**: cioè di un difetto di programmazione dei tessuti che avverrebbe in età embrionale o fetale⁹⁸⁹ e le cui conseguenze si rivelerebbero dopo (molti) anni). Paradigmi tutto sommato poco noti e fondati su un assunto di base, che è appunto quello della *DOHaD* che, come detto in altre sezioni di questa Monografia, da modello patogenetico inizialmente proposto e validato per alcune specifiche patologie⁹⁹⁰, sembra assumere sempre di più i caratteri di un paradigma patogenetico “universale”⁹⁹¹ in base al quale le alterazioni del microambiente uterino (legate a carenze nutrizionali, all'inquinamento progressivo dell'ambiente e delle catene alimentari o ad altre situazioni di *stress* materno-fetale) sembrerebbero poter indurre alterazioni dell'assetto epigenetico di vari tessuti ed organi

Che il feto sia particolarmente vulnerabile ai cambiamenti ambientali, che possono influenzare il suo sviluppo e avere conseguenze tanto immediate, che a lungo termine è noto da tempo. Ma solo da una decina di anni a questa parte si è cominciato a capire come questa sensibilità sia da mettere in riferimento con **l'intrinseca plasticità** del feto e, in particolare, del genoma fetale: cioè con le possibilità adattative e programmatiche di questo in risposta alle informazioni più o meno corrette (es. *ormoni/morfogeni*) o fallaci (es. *interferenti endocrini*) provenienti dall'ambiente. Le risposte a tali informazioni sono essenzialmente di natura epigenetica, e consistono in specifiche marcature del DNA e a modifiche potenzialmente reversibili del suo *software* (code istoniche, *network* di RNA minori ecc..)⁹⁹².

Per quanto concerne il ruolo degli agenti *esogeni* (biologici, chimici, fisici) in grado di interferire direttamente o indirettamente (ad esempio mediante produzione di radicali liberi) con il genoma valgono le considerazioni esposte nel precedente capitolo. Esistono revisioni sufficientemente approfondite e complete, che prendono in considerazione tanto gli aspetti più generali⁹⁹³, che i meccanismi molecolari più specifici⁹⁹⁴ implicati in questi nuovi modelli, che potrebbero cambiare in modo radicale la nostra rappresentazione delle origini di molte malattie e del cancro.

È utile, a questo proposito, ricordare come siano sufficienti **quantità infinitesimali di agenti epi-genotossici**, quali metalli pesanti ed interferenti endocrini, per indurre cambiamenti nella conformazione della cromatina e, di conseguenza, per influire sull'espressione genica delle cellule somatiche (differenziate), ma soprattutto sulla programmazione epigenetica delle cellule meno differenziate (cellule embrio-fetali e cellule staminali tessutali).

Abbiamo già ricordato come numerosi studi, eseguiti in varie parti del mondo stiano valutando il *carico chimico* (*chemical body burden*) dei nostri organismi, soprattutto in donne, bambini, embrioni e feti, fornendo non di rado risultati allarmanti⁹⁹⁵. Tra i più conosciuti sono gli studi effettuati da ricercatori dell'*Environmental Working Group (EWG)*⁹⁹⁶, che hanno documentato la presenza di decine di molecole tossiche, mutagene e cancerogene in sangue, urine, latte materno, cordone ombelicale di quasi tutti i soggetti sottoposti ad analisi. E anche in questo senso vale **la regola generale, secondo cui è l'esposizione frequente e/o protratta a quantità minime a rappresentare il maggior problema**: è stato ampiamente dimostrato che l'esposizione a interferenti endocrini e altre molecole tossiche in precise fasi dello sviluppo ontogenetico (*finestre di esposizione*) può indurre uno *stress* genetico e specifiche modifiche epigenetiche⁹⁹⁷, **acuire la sensibilità agli agenti cancerogeni**⁹⁹⁸ e **influire sulla penetranza di particolari oncogeni e geni oncosoppressori**⁹⁹⁹.

L'importanza degli eventi genetici insorti *in utero* è stata per molti anni sospettata sulla base di studi di concordanza su **gemelli affetti da leucemia**¹⁰⁰⁰ e confermata da studi genetici che hanno trovato nei campioni di **sangue calcaneare** di neonati che avrebbero in seguito sviluppato forme leucemiche, le traslocazioni e le sequenze geniche corrispondenti ai geni di fusione successivamente trovati nei blasti¹⁰⁰¹.

Oggi sappiamo che **traslocazioni e cloni pre-leucemici si formano nel feto con frequenza molto maggiore rispetto all'incidenza di leucemie**: i comuni geni di fusione leucemici, TEL-AML1 t(12;21)(p12;q22) o AML1-ETO t(8;21)(q22;q22), sono presenti nel sangue cordonale con una **frequenza 100 volte maggiore** del rischio di leucemia corrispondente¹⁰⁰². Questo dato viene in genere letto come la dimostrazione del fatto che le traslocazioni non sono di per sé sufficienti a determinare l'insorgenza di una leucemia, che necessiterebbe eventi genetici complementari successivi in epoca postnatale¹⁰⁰³. Un'interpretazione non meno interessante consiste nell'ipotizzare che se meno dell'1% dei bambini che hanno “prodotto” una traslocazione hanno sviluppato una leucemia, potrebbe essere perché la traslocazione rappresenta un **modifica genomica attiva, potenzialmente positiva, adattativa, reattiva a esposizioni tossiche in utero**.

Non è possibile approfondire in questa sede una simile tematica. Può essere utile però ricordare quanto già descritto in un precedente capitolo e attinente un'area caratterizzata da inquinamento protratto, come quella di Seveso, dove a distanza di decenni dall'incidente che provocò la contaminazione da **diossina** di un vasto territorio, molti soggetti presentano tuttora un alto numero di traslocazioni 14:18 (tipiche del linfoma follicolare), pur senza sviluppare il linfoma¹⁰⁰⁴. E come questa stessa traslocazione sia anche frequente in soggetti lungamente esposti a **pesticidi** per motivi professionali¹⁰⁰⁵, a riprova, tra l'altro, del fatto che **non è tanto l'agente chimico a determinare la specificità della mutazione, quanto, piuttosto, la reazione attiva del genoma stesso**. Se poi ricordiamo come in questa, al pari che in altre traslocazioni pro-leucemiche o pro-linfomatose, l'oncogene BCL-2 (un gene antiapoptotico, fisiologicamente attivato nelle popolazioni linfocitarie di memoria¹⁰⁰⁶ e nei linfociti B “immortalizzati” dal virus di Epstein Barr¹⁰⁰⁷) sia costantemente espresso, perché

giustapposto alla sequenza *enhancer* del gene codificante per una catena pesante delle IG, possiamo meglio accettare l'ipotesi che le traslocazioni siano modifiche genomiche attive, adattative (potenzialmente difensive) piuttosto che semplici "aberrazioni cromosomiche".

Ribadiamo ancora che tutto questo è difficilmente accettabile per chi si attenga al **paradigma mutazionale stocastico** e più generalmente ad un modello **lineare e gene-centrico di DNA**¹⁰⁰⁸. È infatti evidente che solo all'interno di un modello di genoma inteso come *network* molecolare unitario e complesso e al contempo dinamico e reattivo¹⁰⁰⁹ sia possibile ipotizzare che all'origine di queste e, probabilmente, di tutte le altre modifiche dapprima epigenetiche (ipometilazione del DNA, ipermetilazione di specifiche sequenze promoter di geni oncosoppressori¹⁰¹⁰), poi genetiche¹⁰¹¹ (instabilità genomica, mobilizzazione di sequenze trasponibili¹⁰¹²) e cromosomiche/genomiche (traslocazioni etc.) che scandiscono la progressione del processo neoplastico sia riconoscibile un **processo evolutivo/adattativo**¹⁰¹³ **ed essenzialmente difensivo, fallito o distorto**¹⁰¹⁴.

Per concludere possiamo almeno accennare al fatto che le **leucemie del primo anno** - tra quelle che, come detto, hanno subito un **incremento maggiore** e che, secondo il modello dis-reattivo/dis-evolutivo rappresentano l'esempio più emblematico di **s-programmazione epigenetica precoce** - presentano anche su un piano molecolare caratteristiche del tutto peculiari.

È significativo, infatti, che in queste forme sia implicato con grande frequenza il gene **MLL1, codificante per una metiltransferasi istonica, un enzima-chiave per l'attuazione di modifiche epigenetiche/cromatiniche fondamentali nelle prime fasi dello sviluppo fetale** e della differenziazione di alcuni tessuti (in particolare nell'ambito dell'**ematopoiesi**¹⁰¹⁵) e implicato in **decine di traslocazioni diverse**¹⁰¹⁶ che esprimono proteine di fusione in grado di interferire con la differenziazione delle cellule staminali ematopoietiche pluripotenti, s-regolando i *patterns* di espressione dei geni HOX¹⁰¹⁷.

Anche la notevole **frequenza di riarrangiamenti del gene MLL1 in leucemie e sindromi mielodisplastiche secondarie a trattamenti con inibitori della topoisomerasi II** è degna di nota, in quanto **depone a favore dell'origine (epi)geno-tossica prenatale** delle leucemie del primo anno, per esposizione materno-fetale a sostanze in grado di interferire con l'azione di questo enzima fondamentale per l'*unwinding* della doppia elica, come i bioflavonoidi¹⁰¹⁸ (contenuti in molti alimenti) e insetticidi molto utilizzati come il *dipyrrone* (*Baygon*)¹⁰¹⁹.

Questo capitolo rappresenta solo una breve introduzione ad una problematica estremamente complessa e delicata: quella del possibile significato dell'incremento dei tumori infantili, verificatosi negli ultimi decenni in evidente concomitanza con l'aumento (ancor più marcato) e la progressiva anticipazione nell'età di insorgenza di molte patologie cronico-degenerative.

Non è ancora possibile dimostrare con assoluta certezza **l'origine embrio-fetale o addirittura transgenerazionale (epigenetica e s-programmatica)** di questi tumori. Ma a distanza di decenni dalle intuizioni di Renzo Tomatis e dalle prime formulazioni esplicite di una teoria delle origine fetali di alcune forme di cancro¹⁰²⁰ e in un mondo sempre più caratterizzato dalla diffusione ubiquitaria di migliaia di molecole potenzialmente pro-cancerogene nelle catene alimentari e persino nel sangue cordonale e fetale¹⁰²¹ è d'obbligo ricordare ancora una volta le parole di Tomatis, secondo cui per invertire il *trend* di continuo aumento di tumori esiste una strada obbligata, quella della **prevenzione primaria: id est** della riduzione del carico chimico globale, non solo per quelle sostanze per le quali esista una sufficiente evidenza sperimentale negli studi di cancerogenesi chimica¹⁰²² ma anche per i numerosi cancerogeni "possibili" (categoria 2B secondo IARC), per molti dei quali è ben difficile che eventuali future ricerche possano dare una risposta definitiva alla domanda se siano o meno cancerogeni¹⁰²³.

CAPITOLO 18

UOMINI, GENOMI, MICRORGANISMI E VIRUS

Abbiamo ribadito più volte che il limite principale della nostra attuale rappresentazione in ambito biomedico consiste nell'aver lungamente trascurato quella che è l'unica cornice valida per la comprensione di qualsiasi trasformazione biologica: l'evoluzione. Un limite che si rivela ancora più chiaramente se si cerca di inquadrare la grande tematica delle patologie infettive e della loro trasformazione nel tempo e, più in generale, delle relazioni complesse e misteriose che legano tra loro organismi superiori, microrganismi e virus. È infatti evidente che il continuo scambio energetico e informativo tra queste che rappresentano le diverse componenti della biosfera andrebbe letto in termini di confronto adattativo e co-evolutivo reciproco e con l'ambiente (anche e soprattutto in ambito molecolare: antigenico e genomico).

Siamo abituati ad affrontare il problema delle relazioni tra uomo, microrganismi e virus in modo antropocentrico e riduttivo. Partendo, in pratica, dalle tradizionali domande (riduttive, fuorvianti e pericolose): quali sono i batteri, i virus e i parassiti *patogeni* per l'uomo? Come agiscono? Come possiamo *difenderci*? O addirittura: come dobbiamo "*combatterli*"?

Sarebbe invece urgente e necessario (non soltanto per motivi di ordine astratto, concettuale) partire da domande differenti: quale **ruolo** hanno batteri, protozoi e virus nell'ambito della biosfera? Come e perché si vanno continuamente **trasformando**? Come cambia il loro rapporto con l'uomo e, più in generale, con gli **organismi pluricellulari (eucarioti)**?

Bisognerebbe *in primis* ricordare come i **microrganismi** rappresentino **l'essenza stessa della biosfera**: ne sono infatti di gran lunga la componente fondamentale sul piano sia quantitativo (60-90% della biomassa a seconda che vi si includa o meno la cellulosa) che qualitativo¹⁰²⁴. Senza "organismi superiori", infatti, la biosfera potrebbe sopravvivere, mentre senza microrganismi l'intera ecosfera collasserebbe: è sufficiente, a questo proposito, ricordare il ruolo centrale svolto dai **batteri** nei **cicli biogeochimici** e in particolare nel ciclo dell'azoto¹⁰²⁵.

Altrettanto importante è ricordare come i microrganismi svolgano il loro prezioso ruolo su questo pianeta da **miliardi di anni** e come tutte le forme attualmente viventi **derivino** da essi, ne siano in larga parte **costituiti**, ne traggano immensi benefici¹⁰²⁶. Per quanto concerne più direttamente l'uomo occorre ribadire come spesso ci si dimentichi che senza batteri, parassiti e virus non potremmo sopravvivere: "dimenticanza" a cui si riconnette il suaccennato atteggiamento *antagonistico*, che rischiamo di pagare a carissimo prezzo.

I microrganismi rappresentano **oltre il 90% delle cellule** del nostro corpo: batteri e funghi popolano la nostra pelle, la nostra bocca, il colon, la vagina¹⁰²⁷. Sul piano immunologico le nostre cellule *self* sono sospese in un mare di cellule non *self* (il rapporto essendo di circa 1:10)¹⁰²⁸. In vari studi sperimentali si è potuto dimostrare che gli animali sterili (privati dei loro simbionti e parassiti) sono notevolmente meno sani¹⁰²⁹.

L'esempio più noto dell'alleanza tra uomo e microrganismi concerne indubbiamente il ruolo svolto dai **batteri simbionti** presenti in vari organi e tessuti del nostro organismo e, in particolare nel nostro intestino: un **eco-**

sistema microbico che vive e co-evolve con noi e la cui composizione è straordinariamente importante non solo per garantire alcune funzioni nutritive e metaboliche che non saremmo in grado di compiere, ma anche per la corretta formazione e maturazione del nostro **sistema immunocompetente** (è stato inoltre dimostrato che i microrganismi che compongono il nostro microbiota **modulano l'espressione genica** delle cellule che rivestono la mucosa intestinale)¹⁰³⁰.

Il nostro microbiota e quello dei nostri parenti mammiferi presentano molte somiglianze nella composizione e organizzazione distrettuale e complessiva, il che è segno di **un'origine comune e/o di evoluzione convergente**. Inoltre le popolazioni umane e microbiche mostrano **filogenesi sovrapposte**, che comprovano una coevoluzione che dura da oltre 50.000 anni¹⁰³¹

Certamente meno nota, ma altrettanto importante a ancor più "intima" è la relazione che intratteniamo con i "nostri" **retrovirus**, alcuni dei quali, da milioni di anni inseriti nel genoma dei primati, svolgono un ruolo di **grande rilievo tanto in ambito ontogenetico che filogenetico**.

L'8% del nostro genoma è infatti costituito da **sequenze retro-virali endogene (HERVs)** e oltre il 50% opera in stretto collegamento con esse¹⁰³². È stato recentemente dimostrato che i **retrovirus** hanno svolto e svolgono un ruolo chiave per la sopravvivenza e l'evoluzione degli organismi che li ospitano: forse la scoperta più eclatante è stata la dimostrazione del ruolo svolto da una proteina codificata e prodotta da un **retrovirus** (la **sincizina**) nella genesi di un organo essenziale per la stessa origine dei mammiferi: la **placenta**¹⁰³³.

Possiamo fare un passo ulteriore sottolineando come i **retrovirus ed altre sequenze mobili** filogeneticamente imparentate con essi (che costituiscono la **frazione in assoluto più rilevante, sul piano quantitativo, del nostro genoma**) svolgano un ruolo fondamentale nel **trasferimento di laterale di informazioni/sequenze geniche tanto nell'ambito delle singole specie, quanto tra specie diverse**¹⁰³⁴.

Dal nostro punto di vista è degno di nota che questi retroelementi siano largamente prevalenti, nei mammiferi, in **famiglie geniche in rapida evoluzione la cui funzione è legata alla risposta allo stress e a stimoli esterni**, il che fa supporre che il loro inserimento è servito a promuovere le trasformazioni e la regolazione di tali loci e geni¹⁰³⁵. In questo contesto è significativo che i geni del Maggiore Complesso di Istocompatibilità, sia di classe I che di classe II, abbiano una altissima densità di **HERVs** rispetto ad altre famiglie multigeniche¹⁰³⁶ e che questi **retrovirus endogeni** abbiano contribuito all'evoluzione accelerata di tali segmenti genomici e, in particolare, alla formazione dei blocchi di sequenze altamente ripetute che caratterizzano i geni HLA 1¹⁰³⁷.

E abbiamo già visto come all'interno di singoli genomi **retrovirus** e **retro-sequenze** imparentate (nell'ambito del genoma umano le SINE-1 – contenenti sequenze retrovirali *env* e *LTR* – e soprattutto LINE-1 – caratterizzate da sequenze retrovirali *pol*) svolgerebbero, per usare il termine coniato da Jim Shapiro, un **ruolo "ingegneristico"** (che le moderne biotecnologie genetiche cercano di imitare). E abbiamo già sottolineato come in aree particolarmente inquinate le sequenze LINE-1 tendano a **spostarsi con maggior facilità** e frequenza nell'ambito del genoma, quale diretta conseguenza di una **ipometilazione** del DNA indotta da alti livelli di **particolato** fine e ultrafine¹⁰³⁸.

Già sulla base di queste premesse è lecito chiedersi se *da un lato* il recente emergere di numerosi **retrovirus** dal mondo misterioso dei genomi e la loro trasformazione in una minaccia per la nostra salute (**HTLV 1-2, HIV 1-2..**), *dall'altro* l'attivazione di **retrovirus** e sequenze mobili affini (filogeneticamente connesse ad essi) e le complesse e ancora in parte misteriose relazioni che legano talune sequenze geniche virali (**V-Onc**) a sequenze omologhe (**C-Onc**) proprie di genomi di organismi superiori e il ruolo svolto da entrambe nell'ambito della cancerogenesi non debbano essere interpretati come un sintomo di un più **complessivo disordine/stress genetico**, concernente il mondo dei primati e probabilmente l'intera genosfera (nell'ambito, ancora una volta, di modelli di genoma fluido e reattivo e di cancerogenesi adattativi/reattivi a trasformazioni ambientali, microambientali ed eco-sistemiche).

Anche le relazioni tra **microrganismi** e **virus** dovrebbero essere interpretate in un tale contesto eco-sistemico¹⁰³⁹. Ci si è lungamente chiesti, ad esempio (alla luce di una rappresentazione probabilmente semplicistica della bio-evoluzione come competizione individuale e di specie) cosa induca i batteri a produrre **tossine** e più in generale microrganismi e virus ad acquisire maggior virulenza, spesso a scapito della loro stessa sopravvivenza/fitness evolutiva.

È sempre più evidente che anche in questo caso una soluzione andrebbe cercata in chiave eco-sistemica: nel senso che l'incremento della pressione selettiva, in gran parte legata alla diffusione sempre più capillare e massiva in ambiente di molecole intenzionalmente o accidentalmente biocide, o comunque in grado di interferire con le principali *pathways* biochimiche, determina uno **stress genomico diffuso**, la slatentizzazione di sequenze retrovirali e mobili in genere e un incremento dei fenomeni di **trasferimento genetico laterale** (tanto all'interno di singole specie, che tra specie diverse, anche distanti sul piano filogenetico/bioevolutivo).

È infatti probabile che nel mondo dei microrganismi le **sequenze mobili** incorporate e trasmesse da virus (*batteriofagi*) e *plasmidi* rappresentino i principali agenti di trasformazione e bio-evoluzione: tanto per ciò che concerne l'acquisizione di nuove **tossine**, quanto per la trasmissione e propagazione della **resistenza ad antibiotici e chemioterapici**. A differenza di quanto avviene nel mondo dei **virus**, dove le principali trasformazioni evolutive derivano da modifiche genetiche (mutazioni, riassortimenti e ricombinazioni) connesse a pressioni selettive e a variazioni ambientali in genere¹⁰⁴⁰, le principali trasformazioni bio-evolutive dei microrganismi sembrano essere essenzialmente un prodotto del **trasferimento genetico laterale** di sequenze mobili/virali esogene¹⁰⁴¹.

● Il problema della virulenza

Una delle regole generalmente accettate come quasi assolute, nell'ambito di un modello essenzialmente **competitivo**, secondo il quale microorganismi e virus sarebbero essenzialmente o in larga misura dei nemici potenziali, che cercano di utilizzare gli organismi superiori come fonti di risorse energetiche e materiali o addirittura come competitori nella grande gara/lotta per l'esistenza è quella secondo cui **“a microorganismi e virus non converrebbe acquisire caratteristiche eccessivamente virulente, onde garantirsi un rifugio e una fonte di nutrimento sicura”**.

È però evidente che già la presenza, sulla scena del mondo, da migliaia di anni, di taluni patogeni potenzialmente letali dimostra come un tale schema sia piuttosto semplicistico. Per giungere alla formulazione di un modello più complessivo, occorre porsi alcune domande-chiave.

Una *prima* domanda potrebbe essere la seguente: è vero che i rapporti tra microorganismi e organismi devono essere riconosciuti come essenzialmente **competitivi** o è vero, piuttosto, che la *biosfera* essendo una rete infinitamente complessa di interazioni segnaletiche ed energetiche, sono piuttosto gli aspetti **cooperativi** e di **integrazione** funzionale e informazionale a dominare il campo.

Una *seconda* domanda, a questo punto praticamente obbligatoria è la seguente: qual è la **differenza** tra un agente patogeno e le migliaia di, spesso assai simili, microorganismi e virus che vivono in noi e attorno a noi condividendo spazi e risorse? E ancora: cosa rende, **a volte improvvisamente**, un microrganismo o un virus relativamente innocuo, aggressivo o addirittura distruttivo nei confronti di altri organismi e in particolare dell'uomo?

Una *terza* domanda potrebbe essere la seguente: cosa spinge un organismo complesso a volte a **tollerare** microorganismi e virus, altre volte a **combatterli** con forza?

E ancora: come mai a volte all'interno di una famiglia di virus moderatamente patogeni, come ad esempio gli *orthomyxovirus* influenzali, emerge un sottotipo drammaticamente virulento, come **l'H1N1 del 1918, che**

causò l'epidemia di Spagnola, probabilmente la più grande epidemia del mondo moderno, che fece molti più morti della prima guerra mondiale, che si era appena conclusa? E cosa ha fatto emergere dal profondo delle foreste africane un virus come Hiv, che in pochi decenni ha fatto il giro del pianeta infettando milioni di donne e uomini e uccidendo, nel medio lungo termine, direttamente o indirettamente, la gran parte?

Per rispondere a queste domande sarà necessario, appunto, utilizzare un **modello bio-evolutivo**, l'unico in grado di aiutarci a comprendere in questo campo ancora più che negli altri analizzati fin qui il grande mistero di quella che Mirko Grmek aveva definito, come abbiamo visto, con il termine: *patocenosi*¹⁰⁴².

Come detto si è lungamente pensato che “non è interesse né del microrganismo, né tanto meno dell'organismo ospite quello di farsi la guerra”. E sulla base di questa semplice riflessione ci si è anche convinti del fatto che nel medio lungo termine la *selezione naturale* svolga un ruolo di integrazione tra le esigenze degli uni e degli altri: come a dire che se i nuovi patogeni - nuovi perché provenienti da nicchie ecologiche diverse o perché improvvisamente trasformati, in particolare sul piano antigenico, da pressioni selettive interne alla propria specie (per quanto concerne i virus si tende a parlare di *quasi-species*)¹⁰⁴³ - tendono a comportarsi da veri aggressori, dopo qualche tempo tra microrganismo e ospite dovrebbe venirsi a determinare una condizione di equilibrio, in genere vantaggiosa per entrambi.

● Il salto di specie

Si tratta evidentemente un ragionamento piuttosto semplicistico, che pure ha un suo fondamento: vedremo, in particolare, come per alcuni virus il cosiddetto “**salto di specie**” determini effettivamente, nella nuova specie ospite, quadri patologici gravi. E questo più che altro a causa della reazione dell'organismo, che di fronte a un agente nuovo tende a essere particolarmente violenta.

È anche vero, d'altro canto, che le drammatiche manifestazioni patologiche dovute ad alcuni agenti patogeni, che hanno funestato per millenni dell'uomo (basti pensare al virus del vaiolo), non sembrano essersi minimamente attenuate col passare del tempo.

Studi e riflessioni teoriche più recenti hanno infatti chiarito che le relazioni tra patogeni potenziali, loro ospiti e determinanti di virulenza, sono assai più complessi¹⁰⁴⁴. Lo studio di situazioni epidemiologiche particolari, quali la diffusione del virus della mixomatosi, importato in Australia dal Sudamerica per controllare la crescita esponenziale delle popolazioni di conigli, ad esempio, permisero di comprendere come siano in gioco: i rapporti tra microorganismi e organismo ospite, la capacità del microrganismo di diffondere nella popolazione, la durata dell'infezione e della vita stessa dell'ospite infetto. Sembra comunque che, in ultima analisi, il livello di virulenza per così dire “ideale” per un patogeno sia quello **intermedio**¹⁰⁴⁵.

Studi più recenti hanno però dimostrato come tutti questi modelli siano approssimativi e come i **meccanismi di adattamento reciproco e all'ambiente**, le situazioni di **infezione multipla e i rapporti con i microorganismi simbiotici dell'ospite**, i rapporti tra **microorganismi e sistema immunocompetente** dell'ospite (basti pensare alle capacità, sviluppate da vari agenti patogeni, di interferire a vario livello con i meccanismi di difesa dell'ospite, fino a trasformare alcuni di questi meccanismi in strumenti utili per la propria sopravvivenza¹⁰⁴⁶), le diverse mutevoli modalità e vie di infezione rendano il discorso assai più complesso¹⁰⁴⁷.

Un ruolo sicuramente rilevante assumono in questo ambito alcune misure e **prassi igienico-sanitarie, che modificano profondamente le pressioni selettive**. Basti pensare alle due misure sanitarie che hanno inciso più profondamente in questo ambito, l'**immuno-profilassi attiva e l'antibiotico-terapia di massa**.

Per quanto concerne la prima non vi sono dubbi sul fatto che alcune **vaccinazioni** di grande successo, come quelle contro i virus del vaiolo e della poliomielite, abbiano positivamente cambiato il panorama epidemiologico del 20° secolo. Eppure anche in questo caso, se si valuta la problematica nel lungo-lunghissimo periodo,

alcuni dubbi e rischi emergono: in specie quando si stenta, come nel caso della *polio* (sia per le intrinseche qualità del virus - un virus a RNA assai instabile e mutevole per definizione - sia per la grande diffusione della malattia stessa, sia per oggettive difficoltà organizzative e logistiche della campagna di eradicazione), a raggiungere gli obiettivi previsti o auspicati di riduzione dei casi effettivi.

È stato inoltre sottolineato da più parti come esista un potenziale **difetto di fondo nell'immuno-profilassi attiva di massa: i ceppi più resistenti sembrerebbero essere quelli più difficili da eradicare da una popolazione** e la **vaccinazione diventerebbe un fattore di selezione positivo a vantaggio di questi ultimi**: il che, in particolare in situazioni come quella concernente la malaria in Africa, dove centinaia di milioni di individui dovrebbero essere vaccinati (qualora si producesse un vaccino finalmente sicuro), costituirebbe una situazione di rischio veramente imprevedibile¹⁰⁴⁸.

Ma anche per vaccinazioni già in atto, come quella recente contro l'HPV (già oggetto di valutazioni estremamente diverse) sussistono numerosi fattori di incertezza, a partire dal limitato numero di ceppi "coperti" dal vaccino, per finire con le insufficienti valutazioni di efficacia¹⁰⁴⁹.

● L'evoluzione dell'antibiotico-resistenza

Ma è certamente l'**antibiotico-resistenza**, che sembra diffondersi inesorabile e sempre più rapida in tutto il pianeta, a rappresentare il problema più preoccupante. Torneremo più a fondo sull'argomento nel prossimo capitolo, limitandoci, per il momento a sottolineare come anche questo problema dovrebbe essere analizzato e compreso in un ambito bio-evolutivo di lungo-lunghissimo periodo: perché gli antibiotici esercitano una pressione selettiva non solo sui microrganismi che rappresentano il loro specifico bersaglio, ma su migliaia di altri microrganismi, alterando equilibri micro-bio-ecosistemici antichi di milioni di anni; e perché, come meglio vedremo, gli stessi **geni di resistenza agli antibiotici** sono antichi di milioni di anni e codificanti per molecole-segnale che servono ai batteri stessi per comunicare tra loro e per coordinare modalità e ritmi di crescita di intere comunità microbiche.

Secondo molti esperti è un dato ormai evidente che i microrganismi stiano **vincendo la loro "guerra"** contro gli antibiotici¹⁰⁵⁰. Se un nuovo antibiotico viene introdotto nel Regno Unito, ceppi batterici resistenti ad esso vengono isolati in molti ospedali entro sei mesi e ad Hong Kong entro 2 anni. Nel 2004, i batteri resistenti acquisiti negli ospedali (da pazienti, cioè, che non avevano segni di infezione al momento del ricovero), hanno ucciso più di 90 000 persone nei soli Stati Uniti (e si è calcolato che il costo degli inutili trattamenti era stato di oltre 80 miliardi dollari)¹⁰⁵¹.

Vedremo però che se anche è vero che parte dell'evoluzione rapida della resistenza avviene nei reparti di *pronto soccorso* e di *terapia intensiva*, dove gli antibiotici vengono spesso utilizzati per evitare le superinfezioni (in particolare chirurgiche), gli antibiotici sono anche ampiamente e del tutto indebitamente utilizzati per promuovere la crescita del pollame e del bestiame, e spesso erroneamente prescritti per le infezioni virali, in particolare quelle dei bambini.

Ma soprattutto vedremo che la maggior parte dell'antibiotico-resistenza **non** deriva da **mutazioni de novo** che si verificano durante il trattamento, ma dal **trasferimento orizzontale** di geni di resistenza che si sono formati, secondo vari autori, in milioni di anni di *corsa "co-evolutiva" agli armamenti* tra batteri e funghi, ben prima che gli antibiotici venissero "scoperti" dall'uomo¹⁰⁵².

Vedremo che il serbatoio (immenso) delle informazioni genetiche per la resistenza agli antibiotici è rappresentato dall'intera biosfera (i fattori di resistenza sono espressi **da geni batterici ancestrali, codificanti per molecole segnale**) e, in particolare, dai microbi commensali, che compongono i nostri **microbiomi**¹⁰⁵³.

I geni di resistenza possono muoversi orizzontalmente su plasmidi e virus e trasmettersi anche per assorbimento diretto del DNA rilasciato dalle cellule batteriche morte. Essi possono inoltre ricombinarsi per formare

cassette di geni che conferiscono resistenza crociata a vari antibiotici multipli e vengono trasferiti come unità. È anche per questi motivi che la **tubercolosi**, “una malattia antica, ma non una malattia del passato”¹⁰⁵⁴, che si era erroneamente pensato non rappresentasse più un problema, sta tornando prepotentemente a esserlo: **tanto** a causa della resistenza agli antibiotici, **che** dell’aumento di soggetti sensibili legato alla pandemia di AIDS. Nel 19° secolo la TBC era la **prima causa di morte da malattie infettive nel Nord del pianeta, ma già alla fine del ‘800 la mortalità per TBC si era ridotta del 90%**. Ma è stato calcolato che oggi 1/3 ca. dell’umanità (oltre 2 miliardi di persone) ha “incontrato” il BK e che ogni anno la tubercolosi uccide tra 1.7 e 2 milioni di persone, mentre sono circa 8-9 milioni quelli che sviluppano la forma attiva; che negli ultimi 15 anni si sono triplicati i nuovi casi di TBC nei paesi ad alta incidenza di HIV (i soggetti affetti da HIV/AIDS hanno infatti ca. 50 probabilità in più di sviluppare una TBC attiva); che circa un terzo dei 33 milioni di persone con HIV/AIDS nel mondo è affetto da TBC in forma latente. Ma soprattutto: che le forme di TBC multi resistente (MDR) siano circa 500mila/anno; che le forme resistenti a tutti i chemioterapici (XDR) circa 40-50mila/anno (in 49 paesi); che il costo per il trattamento di un caso di tubercolosi normale è di circa \$ 25 000, ma di 10 volte tanto (\$ 250 000), in caso di tubercolosi multi-resistente.

Il problema della resistenza non è inoltre limitato ai batteri. Parassiti come i plasmodi della malaria, vermi come gli anchilostomi e molti altri agenti patogeni e anche gli insetti vettori hanno rapidamente evoluto **forme di resistenza a quasi tutti i prodotti chimici** utilizzati per il loro controllo.

L’intero *establishment* medico è impegnato nel tentativo di tenere sotto controllo l’evoluzione continua delle resistenze. Fino ad ora tale sforzo è stato essenzialmente finalizzato a ridurre la possibile insorgenza di mutazioni e di resistenze *de novo*, mediante una rapida eliminazione dei patogeni “prima che possano mutare”, **mediante dosi massive di antibiotici somministrati per lunghi periodi e cambiando ciclicamente** gli antibiotici utilizzati negli ospedali¹⁰⁵⁵. Ma è sempre più evidente che una tale prassi crea una forte **pressione selettiva**, e poiché, come detto, la maggior parte dei geni di resistenza non sono mutazioni *de novo*, ma appunto sequenze geniche pre-esistenti trasferite per via orizzontale (HGT), una forte **pressione selettiva finisce paradossalmente con il promuovere** l’insorgenza delle resistenze che cercava di evitare¹⁰⁵⁶!

Anziché usare dosi massicce di antibiotici per lunghi periodi, i modelli evolutivi suggerirebbero infatti di utilizzare dosi non più grandi di quelle strettamente necessarie a controllare l’infezione. A ben vedere, ci troviamo qui di fronte – sia detto per inciso - a una situazione analoga a quella che caratterizza le **correnti terapie anticancro**: è sempre più evidente, infatti, che tanto nell’ambito della “guerra al cancro” che in quello della “guerra ai microbi” si rischia di commettere lo stesso errore, **eliminando le cellule meno aggressive e finendo così con il favorire proprio quelle più resistenti e maligne**, liberate dalla “**competizione per le risorse**” con le altre cellule!¹⁰⁵⁷

● La tolleranza ai patogeni

Nell’ambito di un modello essenzialmente **competitivo** si fa fatica a comprendere come mai gli organismi superiori tendano a tollerare, anche al proprio interno, milioni di microorganismi che si sono spesso trasformati in utili o addirittura in indispensabili simbionti nel corso dell’evoluzione. Eppure come abbiamo detto e come meglio vedremo le cose stanno proprio in questi termini e anche il nostro organismo ospita milioni di microorganismi simbionti e di virus.

È anzi probabile che la **tolleranza** nei confronti di microorganismi e virus rappresenti la norma piuttosto che l’eccezione, poiché reagire in modo difensivo-aggressivo ha sempre e comunque un costo per l’organismo stesso, come abbiamo già visto, trattando degli effetti dell’infiammazione cronica che consegue sia a condizioni di frequente *challenge* microbico (probabilmente frequenti nei secoli passati), che a situazioni di inquinamento chimico-fisico ambientale¹⁰⁵⁸.

L'idea stessa che le nostre **reazioni difensive**, e in particolare quelle proprie della cosiddetta **immunità adattiva**, siano prive di conseguenze negative o comunque non comportino sempre un costo biologico ed energetico rilevante, si rivela ancora una volta semplicistica. È infatti sempre più chiaro che qualsiasi organismo deve continuamente scegliere tra uno strato di **prevalente tolleranza** o di difesa attiva e aggressiva nei confronti di virus e microorganismi potenzialmente patogeni¹⁰⁵⁹. Ed è sempre più evidente che è la seconda scelta, quella che potremmo definire, in breve, più aggressiva, a risultare in genere più pericolosa e dannosa per l'organismo stesso.

Possiamo anzi affermare che la gran parte delle **patologie infettive più gravi sono tali a causa di una reazione eccessiva e per certi versi paradossale dei nostri sistemi di difesa**. L'esempio più noto ed emblematico è, certamente, in questo ambito e in questo senso quello della famosa epidemia di Spagnola del 1918, nel corso della quale a morire furono soprattutto persone giovani e in buona salute, che svilupparono una **reazione infiammatoria sistemica e soprattutto polmonare violentissima (cytokine storm)** verso il “nuovo” virus¹⁰⁶⁰. Ed è stato dimostrato come la gran parte delle malattie infettive emergenti più gravi (come le febbri emorragiche africane da virus *Ebola*, *Marburg* etc. e i casi mortali di *Dengue* sarebbero in buona sostanza causate da questo tipo reazione difensiva eccessiva).

Anche studi sperimentali hanno recentemente dimostrato la validità della tesi secondo cui la miglior strategia è spesso la “tolleranza”, cioè la ricerca di un equilibrio, piuttosto che non la “guerra”: **topi geneticamente modificati così da non poter reagire in modo violento a determinate infezioni appaiono avvantaggiati**, almeno in alcune situazioni (nel senso che **l'attenuazione della infiammazione reattiva** e quindi della sintomatologia, lungi dal condurre ad un peggioramento dello stato generale, tende a tradursi in una loro maggiore sopravvivenza)¹⁰⁶¹.

Abbiamo già accennato alla teoria classica del “**salto di specie**”, secondo cui un agente patogeno, in genere proveniente da una diversa *nicchia ecologica* o da un altro *serbatoio* animale, nel trasformarsi sul piano genetico ed antigenico, per poter adattarsi al nuovo ambiente e a nuovi ospiti, sembrerebbe poter acquisire caratteristiche particolarmente pericolose per gli organismi “*naive*” (almeno nei suoi confronti) che vengono a contatto con lui. Vedremo nel capitolo concernente i virus influenzali come, almeno secondo alcuni autori, sia stato appunto un tale “**salto di specie**” dal serbatoio naturale, aviario, all'uomo (direttamente o per il tramite di popolazioni aviarie o di mammiferi di allevamento) a causare l'aumento repentino e drammatico della virulenza intrinseca al virus o meglio della reattività tra virus e ospite¹⁰⁶².

Il fatto stesso che **un qualsiasi microrganismo per trasformarsi in patogeno debba acquisire caratteristiche genetiche ed antigeniche che lo adattino (sul piano molecolare) all'ospite** potrebbe apparire paradossale. Eppure è proprio così: nel senso che un virus o un microrganismo per penetrare nell'organismo ospite e in particolare nelle sue cellule, dunque per legarsi a particolari recettori, deve modificare il proprio genoma e le proprie proteine di superficie. Il fatto, ad esempio, come vedremo, che alcuni sottotipi di *orthomyxovirus* influenzale (**H5N1, H9N2, H7N7**), che hanno dimostrato la propria virulenza potenziale nei pochi soggetti colpiti, non si siano poi trasformati, come temuto, in “pandemici” sarebbe essenzialmente legato al fatto che essi non hanno fin qui espresso proteine di superficie adatte a *ligare* i recettori delle nostre vie aeree superiori.

Anche questi meccanismi possono essere meglio compresi più **che all'interno del tradizionale modello competitivo di “corsa agli armamenti”**, mediante un **modello co-evolutivo** e in termini di incidenti in un lungo percorso adattativo tra organismi superiori e microrganismi. Un percorso che potrebbe essersi complicato, per quanto concerne *Homo sapiens*, a partire dalla rivoluzione agricola¹⁰⁶³. Nel senso che, come abbiamo visto, sarebbe stata l'improvvisa trasformazione degli ecosistemi in cui organismi superiori e microorganismi avevano convissuto ed erano co-evoluti per milioni di anni e in particolare la nuova ed **eccessiva (innaturale) promiscuità** tra gli esseri umani e il bestiame, per la prima volta imprigionato e asservito, a determinare da

una serie di squilibri, a facilitare i salti di specie, a rendere l'uomo un bersaglio privilegiato di insetti vettori, parassiti, germi e virus.

È un dato di fatto non solo che le maggiori malattie infettive e parassitarie che hanno funestato la vita dell'uomo, almeno in tempi storici (**malaria, influenza..**) siano delle **zoonosi**, ma che anche le principali malattie infettive emergenti (**HIV/AIDS, SARS, febbri emorragiche**) lo siano. E che in questa trasformazione della *patocenosi*, un ruolo fondamentale lo stiano avendo i **retrovirus, che abbiamo definito come i nostri simbiotici più intimi (genetici)**.

In questo ambito l'emergere drammaticamente improvviso è rapidamente planetario di HIV assume indubbiamente un significato particolare. Le cause di questo drammatico evento sono tuttora incerte e il dibattito è ancora acceso. Hiv è un tipico retrovirus, la cui principale strategia consiste nel cambiare continuamente il proprio assetto genetico (tutti i virus a RNA godono di maggior plasticità genetica e quindi evolutiva) ed antigenico, così da eludere il nostro sistema immuno-competente.

Alcuni recenti studi filogenetici sembrerebbero aver dato finalmente risposte relativamente chiare, almeno per quanto concerne le origini di HIV, da un gruppo di virus in grado di determinare stati di immunodeficienza in varie scimmie (**SIV**): due di questi virus si sarebbero ricombinati tra di loro, probabilmente negli scimpanzé, determinando in essi uno stato di immunodeficienza simile all'AIDS, caratterizzata, tra l'altro, come nell'uomo, da una riduzione progressiva dei linfociti T CD4+. Secondo tali studi la **ricombinazione genetica del virus sarebbe avvenuta negli scimpanzé** circa un secolo fa e i primi casi di passaggio all'uomo (Hiv-1M) sarebbero avvenuti in Cameroun negli anni 20-30¹⁰⁶⁴.

Tutto questo è credibile è accettabile. Non spiega però il grande e rapidissimo successo evolutivo di Hiv, all'interno della nostra specie. Eventi di ricombinazione virale come quello sopra descritto, sono probabilmente assai frequenti. Ma cosa ha favorito la drammatica diffusione di HIV in tutto il mondo?

Non vi sono dubbi che un ruolo fondamentale sia stato svolto, anche in questo caso, dalle **trasformazioni drammatiche dell'ambiente**, soprattutto per ciò che concerne le **immense periferie urbane d'Africa, la distruzione delle società tradizionali, le migrazioni di interi popoli, i nuovi circuiti commerciali e sociali** propri del mondo globale, le nuove **abitudini sessuali** (è noto il ruolo svolto, almeno in un primo tempo in Occidente, da circuiti omosessuali: ma è soprattutto evidente che sono stati i circuiti della **prostituzione internazionale** a favorire il diffondersi di questa e di molte altre patologie trasmissione prevalentemente sessuale¹⁰⁶⁵), l'utilizzo di **sostanze da abuso parenterali** (la via ematica essendo quella drammaticamente più rapida ed efficace, in quanto del tutto nuova /innaturale).

Anche e soprattutto per ciò che concerne il mondo biologico nel suo insieme e, in particolare per la **microbio-sfera** che, come detto ne rappresenta l'essenza, **solo un modello sistemico e coevolutivo** può insomma aiutarci a comprendere gli eventi e le trasformazioni epocali che sono in atto, che incautamente abbiamo innescato e che dobbiamo cercare di comprendere a fondo, se vogliamo evitare la catastrofe che, come detto, non pochi esperti paventano¹⁰⁶⁶. Nei prossimi due capitoli cercheremo di introdurre due dei maggiori problemi che dovremo affrontare: la possibile perdita di efficacia di quella che stata per oltre mezzo secolo la nostra "arma più potente" contro i microrganismi patogeni, gli **antibiotici**; la tanto temuta **prima (vera) pandemia influenzale del III millennio**.

CAPITOLO 19

ABUSO E CATTIVO USO DI ANTIBIOTICI E DIFFUSIONE DEI GENI DI RESISTENZA. IL PIÙ GRANDE ESPERIMENTO DI TRASFORMAZIONE DELLA BIOSFERA

As in other aspects of our social behavior, we identify sometimes annoying creatures as mortal enemies and are determined to annihilate them.... Perhaps the very way we fight infection should be reconsidered."
Amabile-Cuevas, 2004¹⁰⁶⁷

Sussistono pochi dubbi circa il fatto che gli antibiotici siano stati la risorsa terapeutica in assoluto più efficace tra quelle messe in campo dalla medicina moderna. Ed é innegabile che siano stati uno dei principali fattori della (*ahinoi* temporanea) quasi-vittoria sulle malattie infettive, che per millenni hanno dominato e funestato la vita umana, e che a questo punto rischiano di tornare all'attacco più virulente che mai. Altrettanto innegabile è che sia stato il cattivo uso e abuso in medicina e zootecnia di un'arma tanto potente a indebolirla nel giro di pochi decenni, al punto che alcuni tra i maggiori esperti e le stesse agenzie e istituzioni sanitarie internazionali, di fronte all'aumento delle resistenze e alla evidente impossibilità di porre un freno al suddetto abuso, annunciano sempre più spesso la fine imminente dell'“era degli antibiotici”. Quando persino Margaret Chan, Direttore Generale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, si esprime in modo inequivocabile sull'argomento, dichiarando che l'imminente sconfitta delle comuni strategie antimicrobiche, avrebbe decretato la fine del nostro attuale stile di vita, la notizia fece il giro del mondo¹⁰⁶⁸, senza per altro suscitare reazioni particolarmente clamorose. Come mai? La risposta più semplice è che siano ancora pochi a rendersi conto di quel che potrebbe succedere, se non riusciremo nei prossimi anni a trovare una soluzione e se, di conseguenza, tali fosche previsioni si rivelassero fondate. Probabilmente la gran parte di noi preferisce non sapere e credere che si troverà una soluzione. Eppure i motivi per cui i maggiori esperti si dichiarano inquieti e pessimisti appaiono fondati.

Quantità enormi di antibiotici vengono prodotte e immesse in ambiente ogni giorno in tutto il mondo: nel 2008 è stato calcolato che ne vengono utilizzati circa **90-180 milioni kg/anno** (abbastanza per **25 miliardi di trattamenti completi**, vale a dire una media di 4 trattamenti/anno per ogni essere umano). Ma bisogna anche ricordare che **in campo agricolo/zootecnico si utilizza una quantità di antibiotici circa 10 volte superiore che in campo umano**.

Uno dei problemi maggiori consiste anzi nel dato di fatto che molte molecole fondamentali in campo umano (in particolare: ampicillina ed eritromicina e derivati) vengono utilizzate da anni in **ambito veterinario e zootecnico**, non solo per curare le malattie infettive degli animali, ma anche, come vedremo, per favorirne la crescita¹⁰⁶⁹. È sempre più evidente che questo uso sistematico di antibiotici al di fuori dell'ambito ospedaliero e sanitario in genere e soprattutto **in modo del tutto contrario a quelle che sarebbero le indicazioni e modalità d'uso corrette**, rischia di accelerare enormemente il processo di induzione e diffusione delle resistenze.

Come tutti sanno l'era degli antibiotici ebbe inizio tra le due guerre mondiali. E praticamente fin dall'inizio fu evidente che quello dell'antibiotico-resistenza sarebbe stato il problema in assoluto maggiore. Lo stesso Fleming pare si fosse reso conto che una parte dei ceppi di stafilococco esposti a penicillina si rivelavano subito

resistenti (in quanto dotati di un patrimonio genetico favorevole e quindi positivamente selezionati) o diventavano tali (modificando il proprio patrimonio genetico, per meglio “difendersi” dal nuovo, inatteso nemico). E già negli anni '40, prima ancora che gli antibiotici fossero correntemente utilizzati in ambito terapeutico, si capì che i batteri erano in grado di elaborare complesse strategie per resistere alla nuova minaccia.

Quando si vide che i batteri sviluppavano una resistenza enzimatica nei confronti della penicillina, le case farmaceutiche risposero mettendo in campo meticillina e cefalosporine: la grande corsa alle armi era cominciata¹⁰⁷⁰. Nel 1959, durante un'epidemia di shigellosi ci si rese conto che le resistenze agli antibiotici si trasmettevano con grande facilità e, soprattutto, non potevano essere il frutto di semplici mutazioni, visto che il microbo in causa (*Shigella dysenteriae*) si dimostrava resistente a quattro antibiotici del tutto diversi (tetraciclina, sulfamidici, streptomina e cloramfenicolo), a differenza di quanto si era visto fino ad allora, nel caso di gemi resistenti a varie penicilline.

Alcuni, tra cui il grande biologo molecolare **Joshua Lederberg**, previdero già allora i rischi di un abuso di un'arma tanto potente e cercarono di porre, fin dall'inizio, il problema **in termini ecosistemici**, chiedendosi se avesse senso cercare di **eliminare** dalla scena i microrganismi la cui pericolosità per l'uomo era dimostrata, anziché limitarsi a contrastarne l'azione, caso per caso, quando questo si rivelava necessario. Questi (pochi) scienziati avevano cioè capito, fin dall'inizio, che l'uso, ma **soprattutto l'abuso di farmaci antibiotici rischiava di trasformarsi in un vero e proprio programma di selezione artificiale** nei confronti di quella che, come abbiamo visto nel precedente capitolo, rappresenta da miliardi di anni, la componente fondamentale della biosfera.

In pochi anni l'uso di antibiotici crebbe in modo rapidissimo in tutto il mondo: non solo perché di fronte alla potenza stupefacente ed ai risultati quasi miracolosi dei primi antibiotici nei confronti di malattie reputate per secoli come incurabili, le poche voci dubbiose e responsabili avevano pochissime *chances*; non solo perché in tempo di guerra gli antibiotici risultarono preziosissimi; ma anche e soprattutto perché nel giro di pochi anni gli enormi guadagni che la prescrizione e l'abuso di antibiotici consentiva alle cause farmaceutiche, spazzò via qualsiasi resistenza.

Fu così che quello che rappresenta a tutt'oggi forse **il maggior esperimento di diretta trasformazione ecosistemica della biosfera** ebbe inizio e si estese con esiti inizialmente trionfali, tanto che un importante dirigente del CDC di Atlanta ebbe l'ardire di pronosticare l'imminente fine dell'era dei microbi. Ma in pochi anni le cose cambiarono drammaticamente: *sia* perché ci si rese conto che era ed è sempre più difficile, per svariati motivi, mettere in campo molecole nuove, dotate di attività antibatterica¹⁰⁷¹, *sia* e soprattutto perché il problema delle resistenze si rivelò, ben presto, praticamente irrisolvibile¹⁰⁷².

Nel gennaio 1981, i partecipanti ad una conferenza a Santo Domingo pubblicarono una “Dichiarazione sui pericoli dell'uso improprio degli antibiotici” in cui si poteva leggere: “Siamo di fronte a un problema globale di salute pubblica” e crearono un gruppo interno di studio costituito di esperti provenienti da 80 nazioni, l’**“Alleanza per l'uso prudente degli antibiotici”** (APUA), che è tuttora attiva¹⁰⁷³, ma che non ha potuto ottenere i risultati sperati.

Evoluzione microbica e antibiotico-resistenza: verso un modello neolamarckiano?

Il problema delle resistenze agli antibiotici è stato lungamente interpretato come un fenomeno moderno, unicamente legato alla inevitabile **pressione selettiva** prodotta da tali nuovi e potentissimi farmaci, essenzialmente in ambito sanitario. Tale punto di vista risultava anche rafforzato dal fatto che i ricercatori che avevano isolato e studiato microbi precedenti l'era antibiotica, ne avevano dimostrato l'estrema sensibilità agli antibiotici¹⁰⁷⁴. Il modello interpretativo era, anche in questo caso, **esclusivamente neo-darwinista**: si pensava cioè, e ancora oggi molti lo pensano, che ogni singolo trattamento con un antibiotico rischiasse di selezionare un certo numero di ceppi resistenti, che sarebbero prima o poi finiti in ambiente e che, in alcune sedi particolari (es. classico gli ospedali e in particolare i **reparti di terapia intensiva**), i ceppi resistenti si sarebbero affermati e

trasformati in residenti stabili. Si trattava di un modello almeno sulla carta validissimo, che però si è dimostrato del tutto insufficiente a spiegare la rapida trasformazione in atto nell'ambito dell'intera (micro)bio-sfera. E questo per vari motivi: *in primis* perché abbastanza presto si comprese che i batteri, non solo i "patogeni" che rappresentano il *target* intenzionale degli antibiotici di sintesi, ma tutti quelli che si trovavano a condividere la stessa nicchia ecologica, riuscivano a modificare attivamente il proprio corredo genetico e ad acquisire, di conseguenza, caratteristiche morfo-funzionali nuove e vantaggiose (ad esempio recettori membranari ed enzimi in grado di processare l'antibiotico), grazie ai meccanismi di **ingegneria genetica naturale** ipotizzati una trentina di anni fa da Cairns¹⁰⁷⁵ e descritti qualche anno dopo da Jim Shapiro e/o per **trasferimento genico laterale**, cioè per acquisizione di materiale genico da altri microrganismi (nuove sequenze geniche e/o regolatrici)¹⁰⁷⁶. Infine, studi recenti hanno ulteriormente rivoluzionato il quadro, dimostrando in modo inequivocabile che **la resistenza agli antibiotici è un fenomeno naturale che precede** la pressione selettiva messa in campo dagli antibiotici¹⁰⁷⁷.

È interessante ricordare come la storia della genetica molecolare abbia avuto inizio proprio dallo studio del **trasferimento genico laterale** tra batteri¹⁰⁷⁸. Ora sappiamo che tutti i procarioti sono dotati di elaborati sistemi transmembrana per il trasferimento del DNA ad altre cellule¹⁰⁷⁹ (e anche alle piante superiori) e che alcuni microrganismi ne possiedono alcuni per acquisire il DNA dall'ambiente¹⁰⁸⁰ e incorporarlo nel proprio genoma **in forma di "isole" codificanti per speciali funzioni adattive**¹⁰⁸¹. Jim Shapiro ha più volte sottolineato come, anche e soprattutto in questo ambito, mentre il modello neodarwinistico afferma che le mutazioni genetiche sono in larga parte stocastiche e sorgono sporadicamente, una crescente letteratura documenta l'attivazione di **meccanismi di ingegneria genetica naturale in risposta "adattativa" a vari stimoli** (molti dei quali collegabili, come nel lavoro "profetico" della Mc Clintock a eventi stressogeni). In uno dei suoi più completi ed esaurienti articoli di revisione, Shapiro, ha elencato e illustrato brevemente tutta una serie di questi **meccanismi, finalizzati alla comunicazione e allo scambio di materiale genetico tra microrganismi**¹⁰⁸², **all'attivazione della risposta SOS**¹⁰⁸³, una risposta attiva, globale al danno del DNA con cui viene arrestato il ciclo cellulare e vengano attivati meccanismi riparativi e mutagenetici ecc.¹⁰⁸⁴. E studi recenti hanno dimostrato come l'attivazione della **risposta SOS possa svolgere un ruolo chiave per l'acquisizione di mutazioni batteriche**¹⁰⁸⁵.

Nel 1988, John Cairns, Julie Overbaugh e Stefan Miller avevano, in effetti, già cercato di dimostrare che **alcune mutazioni in *E. Coli* potrebbero emergere e propagarsi lamarckianamente alle successive generazioni**, in risposta alla presenza, nell'ambiente, di un particolare composto¹⁰⁸⁶. Inevitabilmente l'esperimento scatenò polemiche e critiche, che durarono a lungo, anche perché numerosi ricercatori pubblicarono risultati simili¹⁰⁸⁷, sia per quanto concerne altri ceppi di *E. coli*, che in *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* e *Clostridia*, e in microrganismi eucarioti quali *Saccharomyces Cerevisiae*¹⁰⁸⁸ e *Candida albicans*¹⁰⁸⁹.

La condizione inizialmente proposta da Cairns era rappresentata (come nel classico esperimento di Monod) da uno **stress da carenza nutrizionale indotta**: in presenza di un'unica fonte nutrizionale (lattosio), in una popolazione di batteri incapace di metabolizzarlo emergevano alcuni ceppi che, grazie a un notevole incremento del tasso di mutazione (in colture stazionarie, caratterizzate da bassa attività replicativa e assenza di selezione) acquisivano tale capacità. Cairns e collaboratori cercarono di dimostrare che l'acquisizione di tali "mutazioni adattative" era dovuto all'attivazione preferenziale di **particolari DNA polimerasi**¹⁰⁹⁰ che, in condizioni di *stress* e/o di danno al DNA favorivano (nell'ambito della suddetta "risposta SOS"), in ultima analisi, la formazione di mutazioni¹⁰⁹¹ utili al microrganismo per sopravvivere nelle nuove condizioni ambientali (ragion per cui le si definì con il termine di **DNA mutasi**)¹⁰⁹².

Come detto gli studi di Cairns furono aspramente criticati e molti nutrono tuttora dubbi sulla loro validità, o almeno sulla loro interpretazione. Ma, come detto, numerosi studi successivi dimostrarono l'esistenza di **mutazioni adattative inserite in un contesto più ampio di stress e caos genomico, con rotture e ricombinazioni, alterazioni dei meccanismi di riparazione, amplificazioni**¹⁰⁹³ **e uno stato di iper-mutazione diffuso a tutto il genoma batterico** attivato e regolato dal sistema SOS, in risposta a precisi segnali ambientali¹⁰⁹⁴.

Le mutazioni attive/adattative e, al contempo, trasmissibili da una generazione all'altra (*lamarchiane*) rappresenterebbero un esempio emblematico di come un organismo possa “fornirsi di armi genetiche per fronteggiare le necessità ambientali e quindi adattarsi evolutivamente all'ambiente”¹⁰⁹⁵. E l'ambito in cui tale capacità dei microrganismi di acquisire rapidamente “armi genetiche” assume per noi la maggiore importanza è evidentemente quello dell'**antibiotico-resistenza**.

Abbiamo detto in precedenza che, inevitabilmente, il modello-base utilizzato per rappresentare e interpretare il problema delle origini dell'antibiotico-resistenza era stato inizialmente *neodarwinistico*. Come ormai sappiamo la differenza fondamentale tra paradigmi *neodarwinistico* e neolamarckiano consiste essenzialmente nel ruolo dell'ambiente, che nel primo caso svolge un ruolo essenzialmente **selettivo**, mentre nel secondo ha un ruolo anche **induttivo**. Quanto detto fin qui ci permette anche di capire, **anche in questo contesto, in che senso una concezione dinamica del genoma inteso come *network* molecolare complesso e in grado di auto-modificarsi in modo attivo, reattivo e adattativo in relazione alle informazioni e in particolare ai segnali di pericolo e stress provenienti dall'ambiente consenta di spiegare assai meglio le modifiche verificatesi in pochi decenni dagli ecosistemi microbici**.

Tanto più alla luce di quanto emerso dalla ricerca più recente sulla **reale natura degli antibiotici e dei geni di resistenza**.

● **Gli antibiotici, prima di essere tali (anti-biotici)**

Abbiamo detto in precedenza che la resistenza agli antibiotici è un “fenomeno naturale che precede, paradossalmente, di gran lunga l'esistenza degli antibiotici di sintesi” e la pressione selettiva da questi esercitata sui microrganismi stessi. Non solo: è ormai possibile affermare che le molecole che utilizziamo come antibiotici da un lato e i cosiddetti “**geni di resistenza**” dall'altro (cioè le sequenze del DNA batterico che codificano per proteine che conferiscono un certo grado di resistenza) hanno **origine naturale e remota**. E questo evidentemente cambia (dovrebbe cambiare) radicalmente il nostro modo di inquadrare il problema¹⁰⁹⁶.

È infatti ormai dimostrato che **gli antibiotici sono molecole segnale, utilizzate da milioni di anni dai microrganismi per comunicare tra loro** e che tale effetto dipende essenzialmente dalla quantità di molecola prodotta. Possiamo anche affermare che, in linea generale, **in piccole concentrazioni (quelle comuni negli ecosistemi naturali) gli antibiotici tendono ad avere effetti benefici per i batteri stessi**¹⁰⁹⁷. Lo si era già capito dal fatto che **esponendo vari microrganismi a dosi minime di antibiotici li si induce a trascrivere geni diversi**¹⁰⁹⁸. E si era anche scoperto che **tali molecole-segnalet sono ubiquitariamente diffuse in tutti gli ecosistemi**¹⁰⁹⁹; che esse sono prodotte e **trasmesse orizzontalmente tra microrganismi anche distanti tra loro sul piano genetico e filogenetico**; che la gran parte delle **resistenze** si producono e trasmettono in questo modo¹¹⁰⁰.

Lo studio di questa **complessa rete di segnali e interazioni molecolari** dovrebbe portare ad una **rappresentazione finalmente eco-sistemica** in cui gli aspetti di **comunicazione e cooperazione tra organismi superiori e comunità microbiche siano meglio riconosciuti e valutati rispetto a quelli competitivi**¹¹⁰¹. Quel che è sempre più evidente è che le trasformazioni indotte negli ecosistemi dal rilascio di enormi quantità di antibiotici, rischia di alterare progressivamente gli equilibri e le modalità di comunicazione interne ad essi, accelerando, in pratica, la produzione di molecole segnale (cioè attivando i **geni di resistenza**).

Da circa 30 anni sappiamo anche che molti **geni di resistenza si trovano su elementi genetici mobili - *trasposoni, integroni o plasmidi* - che possono essere facilmente mobilizzati e trasferiti** ad altri batteri della stessa specie o anche di specie diversa¹¹⁰². Un esempio recente è drammatico concerne i ceppi mutati di *E Coli* che negli ultimi anni hanno causato epidemie drammatiche come il famoso **E Coli 0157:H7** e il più recente **E Coli 0104: H4 “tedesco”** che sono dotati di intensa attività tossica e pro-emorragica in quanto hanno acquisito sequenze geniche particolarmente virulente da altri germi enteropatogeni e in particolare geni codificanti per tossine di *Shigella*)¹¹⁰³.

Estremamente importante e preoccupante è il fatto che esistono prove evidenti del trasferimento di **geni di re-**

sistenza da batteri enteropatogeni ai comuni batteri commensali che fanno parte del nostro microbiota intestinale¹¹⁰⁴. Come già detto è estremamente probabile che gli **antibiotici** stiano determinando una notevole **accelerazione dei processi di trasferimento laterale** delle sequenze mobili e dei geni di resistenza in esse contenute.¹¹⁰⁵

Ma quali sono le fonti e i “serbatoi” di questi geni trasferibili?

Una piena comprensione delle pressioni e delle circostanze che portano all’evoluzione e alla diffusione di geni di resistenza agli antibiotici nei germi patogeni è impossibile senza un esame dettagliato della **provenienza e del ruolo di geni di resistenza in ambienti naturali**¹¹⁰⁶.

L’uso a scopi profilattici di antibiotici negli **allevamenti ittici** ha portato ad un aumento del numero di batteri resistenti. Sorprendentemente, questi batteri si sono rivelati in grado di trasferire i geni di resistenza agli agenti patogeni umani.

Come vedremo nel prossimo capitolo, a proposito dei virus influenzali, di cui rappresentano il serbatoio naturale, molti **uccelli** nidificano nell’Artico e migrano attraverso i sei continenti. Essi possono acquisire batteri resistenti agli antibiotici o direttamente da ambienti che sono sotto influenza umana o da altri volatili che contattano tali ambienti. Questo attesta le grandi distanze geografiche che possono essere percorse dai geni di resistenza associati alla notevole pressione selettiva indotta dall’uomo¹¹⁰⁷.

Alcuni studi hanno anche documentato il trasferimento diretto di resistenze dal **“resistoma” del suolo** ai batteri patogeni, rivelando dimensioni di antibiotico-resistenza ambientale in precedenza del tutto immaginabili¹¹⁰⁸. I batteri del suolo producono e “incontrano” una miriade di antibiotici e mettono a punto sempre nuove strategie di comunicazione e di fuga: si tratta di un serbatoio praticamente inesauribile di determinanti di resistenza che possono essere acquisiti dalla comunità microbica.

Ma come detto è il possibile ruolo del **microbiota umano a preoccupare di più**, da quando è risultato evidente che questo si sta trasformando in una vera e propria riserva di geni di resistenza facilmente trasferibili¹¹⁰⁹. Secondo alcuni autori l’immensa diversità dei geni di resistenza già censiti nel microbiota umano potrebbe trasformarsi in una sorta di **moltiplicatore di resistenza** per gli agenti patogeni che interessano più direttamente l’uomo¹¹¹⁰.

La resistenza agli antibiotici si estende ormai a **tutte le classi** note di composti naturali e di sintesi. La frequenza di **alti livelli di resistenza** *tanto* nei confronti degli antibiotici che sono da decenni il *gold standard* dei trattamenti antimicrobici, *quanto* nei confronti di molecole solo recentemente approvate per uso umano, è degna di nota. Nessuna classe di antibiotici è risparmiata, sia che si tratti di farmaci di origine naturale o sintetica.

Resistenza persistente alla *claritromicina* è stata osservata in enterococchi commensali **anni dopo la cessazione della terapia** antibiotica; resistenza all’amoxicillina è stata documentata in colture batteriche orale di bambini **mai prima esposti** a terapia antibiotica.

La resistenza agli antibiotici è ormai un problema **globale**. La diffusione di **cloni multi-resistenti (MDR)** è comune, spesso amplificata dalla rapidità e frequenza di trasporti, commerci, migrazioni. Per converso, anche l’emergere **locale** di batteri MDR, a causa dell’eccessiva pressione di antibiotici è importante: i meccanismi su descritti del trasferimento genico orizzontale forniscono i mezzi per geni come **blaCTX-M** per diffondere attraverso specie e ceppi batterici diversi¹¹¹¹.

Alcuni autori hanno recentemente ripreso gli argomenti critici di **Joshua Lederberg** e dopo aver criticato in modo radicale l’idea stessa di combattere ed eliminare i microrganismi più fastidiosi per l’uomo, secondo una logica anti-ecologica e in sé pericolosa, si sono chiesti se non è arrivato il tempo di **rivedere radicalmente il nostro approccio** al problema¹¹¹². E sulla base di quanto detto fin qui, non ci sembra possano sussistere dubbi circa la necessità e urgenza di un cambiamento radicale di paradigma e di prospettiva.

CAPITOLO 20

ALLARMI PANDEMICI DEL TERZO MILLENNIO¹¹¹³

Come tutti sanno il 1918 è stato l'anno della Spagnola, passata alla storia come la “Madre” di tutte le pandemie, reali o paventate, dell'ultimo secolo. Uno dei maggiori esperti in questo campo, Jeffrey Taubenberger, ha recentemente proposto in modo convincente di riconoscere una fondamentale continuità tra la drammatica comparsa del virus H1N1 nel 1918 e gli ulteriori eventi pandemici (1957, 1968, 2009), tutti dovuti a ulteriori trasformazioni genetiche, antigeniche e patogenetiche di quel virus influenzali. Non è facile fare il punto sulla situazione, dopo una serie di “allarmi pandemici” che hanno profondamente condizionato e condizionano tanto le valutazioni degli esperti, quanto quelle dei non addetti ai lavori. È certo però che da circa quindici anni il mondo dei virus influenzali è in grande e preoccupante fermento e che vari sottotipi e ceppi pericolosi sembra siano effettivamente emersi dal grande serbatoio aviario naturale e/o da impianti zootecnici e avicoli nei quali è massima la pressione selettiva e quindi la frequenza di eventi mutazionali e di ricombinazione che possono dar vita al nuovo, atteso e temuto, virus pandemico (che, non bisogna dimenticarlo, non potrà, prima o poi, che manifestarsi)...

La data chiave per comprendere la sequela di allarmi e allarmismi pandemici che si susseguono da oltre un decennio, è probabilmente il **1997**. E questo per almeno due ragioni.

La **prima** è che nel marzo di quell'anno apparve su *Science* l'articolo di un giovane patologo di origine tedesca, nonché direttore del laboratorio di biologia molecolare presso l'Armed Forces Institute of Pathology, **Jeffrey K. Taubenberger**: il giovane e fino a quel momento semi-sconosciuto ricercatore, dimostrava di esser riuscito a isolare e a sequenziare, almeno in parte, il genoma del virus della *Spagnola*¹¹¹⁴.

L'articolo che annunciava la clamorosa scoperta, era stato inopinatamente rifiutato dalla rivista inglese *Nature* e lungamente tenuto in “lista d'attesa” dalla rivista americana *Science*. I revisori delle due prestigiose riviste erano probabilmente scettici di fronte all'*exploit* di un giovane *outsider*, che pretendeva di esser riuscito a fare quello che i maggiori virologi e biologi molecolari al mondo reputavano pressoché impossibile.

Quella di Taubenberger era stata in effetti un'impresa memorabile. In parte sollecitato dalla lettura di un famoso libro, “*America's forgotten pandemic*”, nel quale lo storico Alfred Crosby aveva dichiarato che, a meno di ritrovare una capsula del tempo sepolta da qualche parte, sarebbe stato impossibile scoprire i segreti del virus che, in pochi mesi, tra il 1918 e il 1919 aveva fatto il giro del mondo, mietendo più vittime della Grande Guerra; in parte suggestionato dalla copertina che proprio la rivista *Science* aveva dedicato, appena due anni prima, ad una curiosa ricerca di “*archeologia genetica*” sul tessuto oculare del padre della chimica John Dalton, affetto da discromatopsia (da allora definita daltonismo), il giovane patologo era infatti riuscito nell'impresa di riesumare il virus dai tessuti di un giovane soldato, morto quasi 80 anni prima, il 26 settembre del 1918, agli inizi di quella che è considerata la “madre” di tutte le pandemie moderne. E dopo alcuni mesi di difficile lavoro, in un piccolo laboratorio e coadiuvato da due giovani e brave tecniche, era riuscito a tracciarne un primo *draft* di sequenza.

Si era trattato di una scoperta importante: sequenziare il genoma del **virus capostipite di tutte le pandemie**

influenzali moderne, avrebbe potuto infatti aiutare i virologi a far luce sul mistero della sua virulenza e, forse, a escogitare valide contromisure nei confronti della temutissima pandemia prossima ventura.

I meriti di Taubenberger e del suo piccolo *staff* sono stati via, via riconosciuti in tutto il mondo anche se, a distanza di dodici anni, bisogna ammettere che l'ottimismo di quei giorni era stato eccessivo e che resta ancora molta strada da percorrere e molto da imparare su quel maledetto H1N1 del 1918, sui virus influenzali in genere e sulle **misteriose leggi che determinano l'irregolare alternarsi di epidemie stagionali e pandemie**.

La **seconda data** che fa del 1997 un anno cruciale **nella storia della “pandemia influenzale” del XX secolo**¹¹¹⁵ concerne un triste evento. Alcuni mesi dopo l'annuncio di Taubenberger, la comunità internazionale dei virologi, in parte forse irritata, in parte affascinata dall'impresa del giovane patologo fu sconvolta da un secondo evento epocale. A Hong Kong, allora ancora colonia inglese, un bimbo di tre anni, che fino a quel momento aveva goduto di buona salute, era stato ricoverato per sindrome influenzale complicata da insufficienza respiratoria ed era morto in pochi giorni, ucciso da una devastante “polmonite virale”.

Il triste episodio si era verificato in maggio, ma l'allarme era partito solo alcuni mesi dopo. I tecnici del laboratorio per il monitoraggio dei virus influenzali di Hong Kong, non erano infatti riusciti a tipizzare il virus, perché i comuni anticorpi prodotti dall'uomo nei confronti dei virus influenzali non lo avevano “riconosciuto”, e avevano mandato i campioni a Rotterdam e ai CDC di Atlanta, senza particolari notazioni d'urgenza. Si erano così persi oltre due mesi, ma di fronte al responso definitivo i dirigenti e gli esperti di Atlanta erano rimasti letteralmente di stucco.

A uccidere il bambino era stato infatti un **H5N1**: un virus pericoloso che nei mesi precedenti aveva ucciso migliaia di polli negli allevamenti di Hong Kong; un tipo di virus influenzale che non aveva mai infettato alcun essere umano (il che, come spiegheremo, era già di per sé causa di grave preoccupazione); ma soprattutto **un virus aviario, verosimilmente passato direttamente dagli uccelli selvatici all'uomo, con la sola intermediazione degli uccelli di allevamento e senza il “fatidico passaggio” nel maiale**. Un “salto di specie” che non si era quasi mai verificato prima di allora e che rappresentava uno degli eventi più temuti dagli esperti; che metteva in discussione alcune delle “regole” che da decenni i ricercatori di tutto il mondo davano per acquisite; che rappresentava **l'episodio potenzialmente pre-pandemico più preoccupante dell'ultimo decennio**.

Ma per meglio capire tutto questo dobbiamo almeno accennare a quella che è la storia delle pandemie e delle epidemie influenzali del XX secolo.

Un modo semplice e interessante di inquadrare la problematica è stato recentemente proposto proprio da Jeffrey Taubenberger, secondo il quale, da quasi un secolo, l'umanità vivrebbe **in un'era pandemica** il cui vero protagonista è stato ed è tuttora l'*orthomyxovirus* influenzale A/H1N1 del 1918: un virus che nei primi anni del secolo avrebbe acquisito alcune modifiche genetiche e antigeniche che gli avrebbero permesso di passare dagli **uccelli selvatici (“serbatoio naturale” di tutti i virus influenzali)**¹¹¹⁶ ai mammiferi e in particolare all'uomo e al maiale e di scatenare, a ridosso della prima guerra mondiale, la più devastante pandemia dell'epoca moderna.

H1N1/1918 è infatti, sul piano genetico, il capostipite di tutti i virus influenzali¹¹¹⁷ che per oltre novanta anni hanno circolato tra gli esseri umani, dando origine tanto alle **epidemie stagionali**, che causano ogni anno centinaia di migliaia di decessi, in genere tra i soggetti più deboli, quanto ad alcune **pandemie**, irregolarmente scaglionate nel corso dei decenni e capaci di uccidere milioni di uomini e donne, spesso giovani, sani e forti. Secondo un **duplice modello epidemico**, unico nell'ambito delle misteriose e complesse relazioni intercorrenti tra uomini e virus, definibili nei termini di una simbiosi immunogenetica, competitiva, cooperativa e persino coevolutiva.

Un equilibrio dinamico e instabile, insomma, **periodicamente turbato da trasformazioni eco-sistemiche e/o demografiche**, più o meno repentine e drammatiche: come le migrazioni di popoli immunologicamente impreparati in aree in cui è endemico un particolare virus o ceppo virale o, al contrario, l'introduzione di un nuovo ceppo o virus in popolazioni sino a quel momento "vergini". Lo scoppio e le devastanti proporzioni assunte dalla *Spagnola* potrebbero essere anche collegate, secondo questo modello, alla Grande Guerra ed esemplificare il primo tipo di trasformazione eco-sistemica; mentre l'introduzione dei virus di influenza, morbillo e vaiolo nelle Americhe da parte dei *Conquistadores* e il successivo crollo degli imperi precolombiani, rappresenterebbero il secondo tipo di trasformazione.

Ma per meglio comprendere il ruolo di capostipite di H1N1/1918 e per capire le apprensioni degli esperti è necessario conoscere alcune **caratteristiche proprie del virus** e delle sue strategie.

Come si sa i virus, al contrario di microbi ed altri parassiti, non sono organismi viventi complessi ed autosufficienti, ma segmenti di biomolecole informatiche (DNA o RNA) circondati da strutture simmetriche, protettive, composte di unità ripetitive (in gran parte proteiche).

Per replicarsi e diffondere nell'ambito della biosfera i virus devono penetrare in esseri viventi monocellulari, come i batteri, o pluricellulari, come piante o animali; copiare alcune informazioni contenute nel DNA dell'ospite, per utilizzarle al meglio le strutture cellulari nonché l'intero dispositivo informatico-riproduttivo, **con il duplice obiettivo di costringere l'ospite a produrre le proteine virali (in un preciso ordine cronologico) e di replicare il programma genetico del virus, composto da DNA o da RNA** (è utile sottolineare che i virus sono la sola componente della biosfera in grado di utilizzare l'RNA per immagazzinare la propria memoria genetica).

Ogni virus utilizza strategie di "colonizzazione" differenti. Per i nostri scopi è sufficiente ricordare le principali strategie adottate dai virus influenzali: la continua modifica del proprio **genoma "segmentato"** (costituito cioè da 8 distinte molecole di RNA, codificanti per 11 proteine); la capacità di utilizzare la membrana delle cellule ospiti per costruirsi un involucro lipidico nel quale inserire le proprie proteine "recettoriali": l'**emoagglutinina (HA)** e la **neuraminidasi (NA)**; la capacità di ligare mediante la propria HA in modo altamente selettivo e specifico il recettore presente sulle cellule dell'ospite (e in particolare uno zucchero presente sulla membrana delle cellule respiratorie: l'acido sialico); l'**utilizzo** con meccanismi biochimici alquanto sofisticati di specifici organuli citoplasmatici (**endosomi**) **per liberare dai rivestimenti il proprio RNA**, che solo così "denudato" può penetrare nel nucleo delle cellule ospiti; **"l'assoggettamento" dell'apparato di trascrizione e traduzione** proteica della cellula che deve essere da un lato inibito nelle sue funzioni fisiologiche, dall'altro utilizzato dal virus per replicarsi; l'utilizzo del reticolo endoplasmatico, dell'apparato di Golgi e della membrana cellulare (spesso si dimentica che a questo scopo il virus deve prima avere acquisito i **"codici di accesso"** a tutte queste strutture) e infine, almeno in alcuni casi (in genere i più gravi), di alcuni enzimi (proteasi) e/o dello stesso DNA cellulare per la produzione di **citochine e chemochine**, molecole pro-infiammatorie che sono all'origine delle reazioni locali (polmonari) e sistemiche più letali.

Le due principali proteine di superficie, **HA** (una **lectina** che media il **binding** del virus ai recettori delle cellule dell'epitelio respiratorio o intestinale dell'ospite) e **NA (neuraminidasi)**: un enzima utilizzato dal virus per *clivare* alcuni zuccheri di superficie e facilitare il proprio passaggio attraverso la membrana cellulare, verso il circolo ematico), sono utilizzate dal virus per farsi riconoscere dalle cellule dell'organismo ospite e per invadere organi e tessuti: la continua competizione con i sistemi di difesa degli organismi ospiti sottopone il virus a una significativa pressione selettiva¹¹¹⁸. Non stupisce quindi che siano **proprio queste le due proteine che presentano il più alto tasso di mutazione e ricombinazione** (è stato dimostrato che **il tasso medio di mutazione per l'HA è di circa 1000 volte superiore a quello di un normale gene di un organismo superiore**).

Per questo motivo gli *orthomyxovirus* influenzali vengono classificati proprio sulla base delle due proteine

di superficie (cioè delle risposte anticorpali a queste): sono attualmente noti 16 sottotipi diversi in relazione all'HA e 9 sottotipi diversi per la NA, per un totale di 154 sottotipi, tutti presenti negli uccelli selvatici (per i quali non sono in genere patogeni, in natura, trovandosi in uno stato di equilibrio co-evolutivo).

Di tutti questi sottotipi soltanto gli *orthomyxovirus* H1, H2, H3 (portatori cioè di HA di tipo 1, 2 o 3) e N1 e N2 sono comunemente in grado di infettare l'uomo (anche se va ricordato come i virus all'origine delle epidemie di fine '800 fossero in realtà degli H8). E analogamente: soltanto i sottotipi H1 e H3, N1 e N2 sono in grado di infettare i maiali (animali che hanno, come vedremo, un ruolo importante in questa storia), mentre altri sottotipi infettano i cavalli e altri animali.

La documentata capacità di ceppi differenti di infettare le stesse cellule; la facilità e la rapidità con cui i virus influenzali possono mutare e ricombinare i propri geni; l'esistenza di numerosi "serbatoi animali" dai quali i vari ceppi circolanti possono acquisire il materiale genetico necessario per sempre nuove ricombinazioni spiegano la lunga permanenza di singoli sottotipi nelle varie specie animali e le loro notevoli capacità adattive e potenzialità evolutive. La storia del lungo "regno" di H1N1 tra gli esseri umani dell'ultimo secolo può essere compresa soltanto in questo modo.

H1N1 entra infatti prepotentemente in scena nel 1918. Ne siamo ormai certi, perché nei campioni di siero precedenti quella data non sono stati trovati anticorpi anti-H1, che ne documenterebbero una precedente circolazione tra gli esseri umani. Ma il duplice mistero della sua comparsa improvvisa e della sua virulenza rimane in gran parte tale, nonostante le grandi scoperte degli ultimi anni, da parte di biologi e virologi molecolari.

Probabilmente, in quegli stessi anni, H1N1 passa dall'uomo ai maiali, uccidendone una quantità imprecisata, e creandosi un ulteriore serbatoio, ancora oggi estremamente importante, dal quale attingere le sequenze genetiche necessarie per trasformarsi e sfuggire ai sistemi immunocompetenti degli ospiti. È anche grazie a questo stratagemma che H1N1 circola, da quasi un secolo (con una breve interruzione tra il 1957 e il 1977), tra maiali ed esseri umani, modificandosi continuamente.

Secondo il paradigma epidemico comunemente accettato le modifiche genetiche e antigeniche minori (*drift*) si tradurrebbero in epidemie stagionali, annuali o biennali, di minor gravità; le modifiche più significative (*shift*), secondarie ad eventi ricombinatori, cioè a veri e propri scambi genici tra virus aviari ed umani, sarebbero invece all'origine delle pandemie, eventi più rari, nel corso dei quali il "nuovo" virus, sconosciuto al nostro sistema immunocompetente, acquisirebbe contagiosità e virulenza, diffondendo più facilmente in tutto il pianeta e uccidendo con maggior frequenza e facilità.

È importante sottolineare, in questo schema, il ruolo svolto dal maiale: è infatti nelle cellule del nuovo animale-serbatoio che i virus aviari ed umani possono più facilmente incrociarsi e ricombinarsi, grazie al fatto che il maiale possiede nelle sue vie aeree recettori in grado di riconoscere e legarsi ad entrambi. Questa potrebbe essere, in particolare, l'origine delle due pandemie più recenti: l'improvvisa sostituzione di **H1N1** con un **H2N2** dotato di HA e NA "nuove" per l'uomo avrebbe determinato, nel 1957, lo scoppio della cosiddetta *Asiatica*, la seconda pandemia per gravità, dopo la Spagnola. L'ulteriore sostituzione della HA, nel 1968, avrebbe dato origine a un virus **H3N2** e alla terza pandemia del secolo, in verità piuttosto mite, nonostante il significativo cambiamento genetico e antigenico del virus.

Con questo complesso "gioco" di mutazioni e ricombinazioni i virus influenzali evolvono e riescono a eludere i nostri sistemi di difesa: come H2N2 aveva sostituito, in modo repentino, nel 1957, H1N1, così H3N2, appena dieci anni dopo, aveva definitivamente scalzato H2N2.

Ma poi, nel 1977, si verificò un evento, mai completamente chiarito: H1N1 riemerse e riprese stabilmente il

suo posto al centro della scena, affiancando H3N2 e contraddicendo la regola secondo cui nel mondo dovrebbe circolare un singolo sottotipo alla volta. La sua improvvisa ricomparsa sulla scena poneva alcuni interrogativi inquietanti e mai del tutto risolti. Si scoprì infatti che A/USSR/90/77 era quasi identico, sul piano molecolare e antigenico, all'H1N1 circolante negli anni '50, che era stato sostituito dall'H2N2 dell'*asiatica*. Era però evidente che, se nei venti anni precedenti avesse circolato tra uomini o (altri) animali, H1N1 si sarebbe trasformato: il virus era dunque rimasto, con ogni probabilità, per tutto quel tempo, nel *freezer* di un laboratorio. Ma chi lo aveva conservato aveva forse continuato a lavorare sperimentalmente su quello che comunque era il più diretto discendente del virus della *spagnola*? E come mai il virus era tornato improvvisamente in circolazione? Gli effetti epidemici e clinici immediati di quella tuttora misteriosa interferenza umana sulla circolazione ed evoluzione degli *orthomyxovirus* influenzali furono, in apparenza, minimi. In pochi mesi H1N1 fece il giro del mondo: si trattò di una sub-pandemia piuttosto atipica, complessivamente mite, che colpì quasi esclusivamente i soggetti più giovani, privi di memoria immunologica. Rimase comunque l'impressione che qualcosa di inquietante e di potenzialmente assai pericoloso si era verificato ed è tuttora difficile valutare quali siano stati i reali effetti di un simile evento.

Dobbiamo inoltre notare come la suaccennata cronistoria sia un po' troppo semplificata. Un'analisi più attenta dei dati epidemici, registrati in questi novanta anni, mostrerebbe infatti un quadro meno lineare e più complesso. **Durante le epidemie 1927-28, 1934-35 e 1951-1953, ad esempio, H1N1 pur non cambiando in modo significativo, ha avuto un tasso di letalità notevolmente più elevato di quello registrato nel 1968 per l'avvento del "nuovo" virus H3N2** e sovrapponibile a quello registrato nel 1957 con l'arrivo del "nuovo" H2N2 dell'*Asiatica*. Altrettanto notevole è il fatto che mentre durante la stagione 1977-78 il condominio tra H3N2 e il "redivivo" H1N1 non sembrerebbe aver causato seri problemi, nel corso della stagione 1997-98 gli stessi due virus e in particolare l'**H3N2/Sidney**, che era andato incontro ad alcune modifiche genetiche apparentemente minori, furono causa di una *poussée simil-pandemica*, caratterizzata da un tasso di letalità sovrapponibile a quello dell'*Asiatica*: fatto di cui si parlò, tutto sommato piuttosto poco, forse anche perché l'attenzione degli esperti, in quel fatidico 1997, era rivolta ai possibili problemi legati al nuovo arrivato, H5N1.

Forse il dato più chiaro, che emerge da questi raffronti è che **l'assenza di una valida memoria immunologica** - come nel 1957 e nel 1968 - sembra un fattore sufficiente a determinare la diffusione pandemica, ma **non la gravità** dell'evento, che è legata piuttosto ad alcune specifiche caratteristiche del virus, come nel 1918, allorché il nuovo arrivato H1N1 non solo aveva mantenuto molte caratteristiche strutturali e biologiche dei propri predecessori aviari, ma aveva anche sviluppato, grazie ad alcuni specifici adattamenti, una notevole capacità di penetrare e diffondere nelle cellule e nei tessuti umani.

Quanto detto fin qui dovrebbe essere già sufficiente a comprendere **i motivi dell'allarme del 1997: dopo novanta anni di "regno" si cominciava a temere che H1N1 stesse per cedere il campo ad un virus completamente aviario e totalmente sconosciuto al nostro sistema immunocompetente**. Un virus aviario che, almeno in teoria, non avrebbe dovuto essere in grado di colpire l'uomo e che, invece, aveva dimostrato di poterlo fare in modo estremamente efficiente. Tanto più che, se il primo caso poteva essere stato un incidente isolato, legato ad una sfortunata quanto improbabile *matching* molecolare tra la HA del nuovo virus e i recettori del bimbo, quanto accadde pochi mesi dopo fu sufficiente a elevare nuovamente il livello di allarme.

A Honk Kong, infatti, alcuni mesi dopo la morte del bimbo il virus tornò a farsi vivo. Tra il novembre e il dicembre del 1997 a Honk Kong si registrarono 17 nuovi casi, 5 dei quali fatali. Inoltre la gran parte dei casi concerneva, per di più, pazienti giovanissimi (al di sotto dei 12 anni) nei quali il virus manifestava la sua devastante potenza: nel giro di pochi giorni si verificavano polmonite, *shock* e danni sistemici irreversibili.

La situazione – il fatto che si trattasse di un virus completamente aviario, la coincidenza con alcuni *outbreaks* epidemici tra gli uccelli stanziali e domestici, le due ondate a distanza di pochi mesi, la maggior suscettibilità

e, soprattutto, la particolare violenza dell'infezione nei giovanissimi, nei quali il virus scatenava in poche ore una polmonite massiva con iperincrizione di citochine e chemochine - non poteva non richiamare alla mente le tremende cronache della peggiore tra le pandemie.

Per di più gli studi molecolari confermarono i sospetti: il virus era praticamente identico a quello che aveva colpito, nei mesi precedenti, il pollame, il che dimostrava, per la prima volta, la realtà del tanto temuto “**salto diretto di specie**” di un virus influenzale altamente patogeno dagli uccelli all'uomo. Tutti e 8 i segmenti del genoma di A/Hong Kong/156/97 erano infatti di origine aviaria e non mostravano alcun segno di ricombinazione con i virus umani; a differenza del virus della Spagnola che, come Taubenberger ed altri avrebbero dimostrato di lì a poco era invece un ricombinante.

La rarità dei casi tra gli impiegati in allevamenti e mercati, gli operatori sanitari e i parenti delle vittime e la contemporanea presenza di anticorpi specifici in tali soggetti dimostravano la **scarsa contagiosità** del virus, ma indicavano anche che un certo grado di trasmissione tra uomo e uomo era possibile (anche se, fortunatamente, la carica virale trasmessa o, piuttosto, la percentuale di virus che riusciva a penetrare nell'organismo non era in genere sufficiente a sfociare in malattia conclamata).

Le misure di contenimento e prevenzione furono immediate ed efficaci: un milione e mezzo di volatili fu eliminato nei tre ultimi gironi dell'anno e l'allarme epidemico rientrò. Ma i timori circa l'imminenza di una possibile pandemia simile a quella del 1918 cominciarono a diffondersi e tanto le agenzie e le istituzioni sanitarie internazionali che le maggiori riviste scientifiche dovettero cominciare ad affrontare il problema.

Furono questi i prodromi del **primo allarme pandemico del terzo millennio**: di quella che ancor oggi, piuttosto impropriamente, viene definita l'*aviaria* e descritta, altrettanto superficialmente, come “lo scampato pericolo dell'aviaria” o, ancor peggio, e irresponsabilmente, come *Avian Hoax* (come a dire: la *bufala aviaria*).

Siamo così giunti al cuore del problema che abbiamo deciso di affrontare, essenzialmente con lo scopo di portare un contributo di chiarezza, moderazione e scientificità in un dibattito che troppo spesso è stato condizionato da pregiudizi ideologici e dietrologici, fraintendimenti, pressapochismo e sensazionalismo, non solo da parte dei *media*, ovviamente interessati di volta, in volta a diffondere falsi allarmi o a tracciare scenari internazionali nei quali funzionari delle principali agenzie sanitarie internazionali e uomini politici corrotti da *big pharma*, alimentavano il panico per incrementare la produzione e la vendita di farmaci e vaccini, ma persino da parte di uomini di scienza che davano, a loro volta, maggior peso e risalto a questi aspetti (in parte reali e deprecabili) del problema, piuttosto che ai **dati allarmanti di un'intera famiglia di virus che sottoposta da anni, negli ecosistemi artificiali creati dall'uomo, a una forte pressione evolutiva**, sembra essere alla costante **ricerca di nuovi “serbatoi”** più o meno naturali e di opportunità per potere arricchire e trasformare il proprio patrimonio genetico e le proprie capacità adattive.

E anche in questo caso, per capire il problema, è necessario ribadire quantomeno alcune definizioni e nozioni basilari, la cui ignoranza ingenera o comunque amplifica la confusione.

Cominciamo col dire che con influenza aviaria si dovrebbe intendere una malattia propria dei volatili. Come abbiamo già ricordato gli **uccelli selvatici rappresentano il serbatoio naturale** dei virus influenzali che risiedono e circolano, probabilmente da milioni di anni, nel loro apparato gastroenterico: è in questo immenso *serbatoio* che sono presenti tutti i sottotipi noti, che in genere non creano né agli uccelli, né ad altri animali particolari danni o problemi e che sono quindi definiti “a basso grado di patogenicità” (**LPAI**).

Ma, come si sa, molti uccelli selvatici sono migratori e possono diventare un facile veicolo per i virus che - in situazioni di *stress* eco-sistemico - tendono con maggior frequenza a mutare e a trasformarsi in “ceppi ad alta patogenicità” (**HPAI**) negli uccelli stanziali o domestici e in altri animali (tra cui il maiale e l'uomo).

Storicamente la prima epidemia di influenza o “peste aviaria” fu descritta in Italia, nel lontano 1878¹¹¹⁹. Sembra

poi che nel 1923 un ricercatore abbia portato il virus clandestinamente in un laboratorio americano e che, un anno dopo, si ebbe un'epidemia nel mercato avicolo di New York che si diffuse agli stati limitrofi e fu debellata con difficoltà.

Nel 1961 un virus ad alta patogenicità causò il primo *outbreak* epidemico tra gli uccelli selvatici, uccidendo, in Sudafrica, oltre un migliaio di sterne: il virus killer era un HPAI H5N3 ed è importante sottolineare come, a tutt'oggi in tutti gli *outbreak* di influenza aviaria siano stati sempre implicati **sottotipi H5 o H7**¹¹²⁰.

Piccoli e rari focolai di influenza aviaria sono stati segnalati, in passato, praticamente in tutto il mondo, senza destare particolare allarme. Poi, ancora una volta in quel fatidico 1997, che rappresenta, come visto e per vari motivi, il momento della svolta, anche le infezioni aviarie cominciarono a moltiplicarsi in tutto il pianeta.

A Honk Kong, dove la prima epidemia del 1997 (fermata con l'uccisione di oltre un milione di uccelli) inaugurò il "nuovo corso", si ebbero almeno altri 3 episodi nel 2001, 2002 e 2003. Altri episodi apparentemente indipendenti (o almeno difficilmente collegabili tra loro) si ebbero in Australia, nelle tre Americhe, in Europa, in Sudafrica e nel Sud Est Asiatico.

Anche in Italia, e ancora una volta a partire dal 1997, si verificarono numerosi focolai epidemici, spesso di notevoli dimensioni: come quello del 1999, causato da un HPAI (H7N1), che durò oltre due anni e coinvolse oltre 15 milioni di volatili e altri in cui furono implicati sottotipi di volta, in volta diversi: H5N2, H5N3, H5N9, H7N3, H7N7.

Un *outbreak* epidemico particolarmente drammatico e violento si verificò in Corea, nel dicembre del 2003: i volatili morivano in modo rapido e in grande quantità, colpiti da una malattia che in quel paese non era mai stata vista. L'allarme partì immediatamente e il virus fu sequenziato: come temuto, si trattava di un H5N1.

Da allora la diffusione del virus non si è più fermata e ha colpito decine di milioni di volatili, dapprima nel sud-est asiatico (Vietnam, Thailandia, Cambogia, Laos, Indonesia), poi in Cina, Giappone, Russia, Mongolia, Kazakistan, Iraq; poi, con alcuni focolai minori, in Africa e nelle Americhe; infine in Turchia, in Egitto ed Europa (ivi compresa l'Italia, dove però i ceppi di H5N1 finora isolati appartengono ad una variante a bassa patogenicità, già segnalata in altre aree del Mediterraneo).

In questi anni il virus è stato attentamente studiato e le sue origini e il suo percorso sono stati in larga parte ricostruiti. Come altri sottotipi H5 e H7, H5N1 deve aver circolato lungamente in Asia tra gli uccelli migratori e quelli stanziali, trasformandosi via, via per adattarsi alle nuove condizioni eco-sistemiche. Passando in uccelli diversi (ocche, anatre, tacchini) H5N1 ha incontrato altri sottotipi, come H9N2 e H6N1, acquisendo per ricombinazione (forse nella quaglia, che sembra poter svolgere, tra le popolazioni aviarie stanziali, una funzione di *mixing vessel* simile a quella svolta, tra i mammiferi, dal maiale) alcune sequenze che hanno trasformato a più riprese il suo genoma. E tra il 1996 e il 1997, forse nei mercati di Honk Kong, era avvenuta la trasformazione definitiva, che aveva consentito a H5N1 non solo di trasformarsi in un HPAI, capace di uccidere i polli in poche ore (e con un tasso di letalità del 100% circa), ma di acquisire alcune modifiche cruciali che rischiavano di trasformarlo nel primo potenziale virus pandemico del nuovo millennio.

La trasformazione di H5N1 continuò negli anni successivi: lenta, progressiva, imprevedibile. Dal 2003 al 2006 i casi umani registrati furono alcune centinaia, ma i tassi di letalità erano altissimi in vari paesi: Vietnam, Thailandia, Indonesia... Veramente sembrava che H5N1 potesse cambiare da un giorno all'altro uno o due aminoacidi della propria HA, trasformandosi definitivamente in un pandemico altrettanto virulento dell'H1N1 del 1918. E a quanti seguivano con apprensione la lenta progressione del virus non potevano che apparire sciocche e irresponsabili le polemiche di quanti parlavano di un allarme inventato.

Nel 2003 si comprese anche che H5N1 stava allargando il *range* dei suoi possibili ospiti e delle sue vittime: in uno zoo thailandese erano morti infatti due tigri e due leopardi, nutriti con carcasse di pollame infetto. Un anno dopo a morire in modo analogo erano state 140 tigri; poi fu la volta di alcuni gatti (anche in Europa), cani, zibetti, pappagalli: tutto questo contraddiceva un'altra delle regole classiche della virologia, secondo cui ogni virus agisce in modo selettivo ed ha un numero ristretto di ospiti e bersagli.

Inoltre H5N1 non era neppure l'unico dei sottotipi influenzali che sembrava infrangere le regole: negli ultimi

anni anche **H7N2, H7N3, H7N7 e H9N2** avevano dimostrato di essere in grado di colpire l'uomo, anche se in generale in modo lieve. Tutto questo sembrava confermare il sud-asiatico come epicentro e fucina delle pandemie influenzali; ma lo studio delle sequenze e, in particolare, la presenza di alcune sequenze derivate da sottotipi endemici in medio oriente, convinse i ricercatori a ridimensionare in parte anche questo "dogma" e a chiedere che il monitoraggio genetico dei ceppi emergenti si estendesse a tutto il pianeta. Sempre tenendo ben presente che **non sempre la virulenza di un ceppo è spiegabile sulla base di singole specifiche modifiche genetiche o antigeniche**; che **virulenza e contagiosità sono caratteristiche in genere acquisite indipendentemente** (come il caso dell'H5N1 dimostra perfettamente); che, soprattutto, è praticamente **impossibile prevedere, allo stato attuale delle conoscenze, quali possano essere le mutazioni o trasformazioni** più complesse che possano rendere il virus più pericoloso per l'uomo.

Tra la fine di aprile e i primi giorni di maggio del **2005** un altro evento allarmò esperti e ricercatori di tutto il mondo: sulle rive del **lago di Qinghai**, tra la Cina e la Mongolia, si ebbe un'impressionante moria di uccelli migratori di diverse specie. Era la prima epidemia di queste dimensioni che colpiva gli uccelli selvatici in uno dei loro santuari naturali e si temeva che da lì sarebbero potuti partire a migliaia gli uccelli sopravvissuti, portando in altri continenti il loro carico mortale.

Ben presto si comprese che anche questi timori non erano del tutto infondati: la gran parte dei ceppi isolati nei numerosi *outbreaks* epidemici che si susseguirono nei due anni successivi (in Nigeria, Iraq, Turchia, Mongolia Russia, Kazakistan..) erano infatti praticamente identici a quello isolato negli uccelli morti sul lago Qinghai e presentavano una specifica mutazione che ne spiegava, almeno in parte, la devastante virulenza, non solo tra gli uccelli, ma anche in alcuni mammiferi di laboratorio.

Negli ultimi anni H5N1 ha continuato a trasformarsi e a uccidere moltissimi uccelli e alcune decine di esseri umani. È utile ricordare che la gran parte dei casi registrati fin qui sono avvenuti in concomitanza con piccoli o grandi epidemie aviarie; che sono pochissimi i casi registrati tra i soggetti maggiormente esposti (addetti ai mercati, veterinari, commercianti) e che la quasi totalità delle morti è stata registrata in piccoli nuclei familiari rurali che convivevano con il pollame in condizioni igieniche alquanto scadenti. Tutto questo spinge a pensare che le relazioni tra virus e sistemi difensivi degli ospiti vadano ulteriormente studiate e chiarite.

Altrettanto importante è notare come a fronte di decine di milioni di uccelli infettati siano stati soltanto 608 i casi umani di influenza da H5N1 accertati in 10 anni (dati ufficiali della WHO al novembre 2012)¹¹²¹ e come dopo un *trend* di sia pur lento incremento tra il 2003 e il 2006, ci sia stata una lieve flessione negli ultimi anni, mentre a partire dal 2009 anche l'indice di letalità sembra essersi lievemente ridotto (la gran parte degli ultimi casi certi/registrati si è verificata in Egitto): il che dimostra, che H5N1 non ha saputo trasformarsi in modo da utilizzare al meglio i recettori delle cellule umane e che la barriera di specie tra uccelli e uomo rappresenta un ostacolo difficile da superare.

D'altro canto anche il fatto che **delle poche centinaia di persone colpite oltre la metà (e in gran parte giovani) siano morte** e per la quasi totalità per una polmonite emorragica direttamente provocata dal virus (o meglio dalla "tempesta di citochine" provocata dal virus), deve spingerci a tenere alta la guardia.

L'ormai stabile presenza di H5N1 tra gli uccelli selvatici, la dimostrazione della sua presenza nei maiali, l'ulteriore espansione del range degli animali colpiti fanno pensare che H5N1 e l'Asia debbano ancora giocare un ruolo importante nella determinazione della pandemia prossima ventura. Anche se il **nuovo allarme pandemico**, lanciato dalla WHO nella tarda primavera del 2009, sembrerebbe aver spostato di alcune migliaia di chilometri l'epicentro del dramma.

Siamo così giunti a quella che è al momento l'ultima tappa degna di nota di questo ormai famoso H1N1: all'ultima metamorfosi di questo virus/*serial killer* che potremmo definire come **l'oscuro signore del secolo pandemico secondo Taubenberger**.

A distanza di oltre tre anni dall'allarme pandemico del 2009, un allarme questa volta ufficializzato con tempestività (secondo molti eccessiva, secondo alcuni addirittura sospetta) dalla WHO e da tutte le maggiori agenzie

sanitarie internazionali credo sia possibile affermare che si sia trattato se non di un falso allarme, comunque di una **soppravvalutazione o di un'errata lettura** dei dati epidemiologici e virologici (anche molecolari) che andavano via, via emergendo.

Come detto un virus pandemico dovrebbe avere due caratteristiche fondamentali: la contagiosità e la virulenza. Dovrebbe essere cioè in grado di farsi riconoscere e di penetrare nelle nostre cellule, per poter utilizzare il nostro organismo come una sorta di laboratorio, adattato alla propria clonazione e diffusione; ma anche di eludere i nostri sistemi di difesa, come nel 1957 seppe fare l'H2N2 dell'Asiatica o addirittura di farli impazzire, come nel caso dell'H1N1 capostipite e dell'H5N1 della cosiddetta *aviaria*.

Non solo i quotidiani, spesso allarmanti se non allarmistici reportage mediatici del 2009 (che ci appaiono oggi quasi incomprensibili); non solo i dati epidemiologici ufficiali, che dopo pochi mesi parlavano già di centinaia di migliaia di casi censiti in decine di paesi (un'inevitabile sottostima, rispetto ai casi reali) e di poche migliaia di morti, per la gran parte tra soggetti particolarmente fragili o comunque a rischio (non si dimentichi che il comune virus influenzale provoca, in media, 5-600 mila decessi annui: cioè tra mille e duemila morti al giorno); non solo i pareri della gran parte degli esperti che fin dall'inizio (con qualche illustre eccezione) hanno ribadito che il famoso "**triplice ricombinante**" messicano non sembrava avere caratteristiche tali da giustificare l'allarme; ma anche e soprattutto i dati complessivi di questa prima "pandemia ufficiale" del III millennio, ci appaiono, a tre anni distanza rassicuranti.

Ma una serie di domande si impongono. Quale significato dobbiamo dare a quest'ennesima trasformazione di H1N1, avvenuta in contesti o almeno in aree del mondo diverse da quelle più tradizionali e quindi maggiormente monitorate da decenni? **È corretto e soprattutto utile considerare questa come la prima pandemia del XXI secolo, o dobbiamo attendere e temerne un'altra?** Che effetto hanno avuto non solo e non tanto sugli addetti ai lavori, ma anche e soprattutto sulla gente comune gli ultimi allarmi, per fortuna rientrati, e in particolare quest'ultimo, da più parti definito come strumentale e finalizzato a vendere farmaci antivirali di dubbia utilità o, addirittura, a utilizzare su milioni di esseri umani, vaccini inevitabilmente sperimentali, possibilmente pericolosi (a causa di sostanze immunostimolanti come lo squalene e stabilizzanti come il mercurio) e per di più quasi certamente inefficaci nei confronti di un virus in piena trasformazione genetica e antigenica (problema più generale, che dovrebbe esser posto, in verità, ad ogni pandemia)? E ancora: che cosa ci ha insegnato quest'allarme pandemico: ci ha trovato preparati o impreparati?¹¹²²

Non è facile dare risposte chiare e convincenti a queste e ad altre domande che circolano da anni in tutto il mondo, mescolandosi a voci di allarmi pandemici strumentali e di bufale mediatiche. Ci limiteremo quindi a qualche riflessione finale su questo famoso H1N1 suino che secondo alcuni sarebbe ancora un pandemico potenziale.

Sulla base delle nostre conoscenze attuali, è possibile affermare che H1N1 sia passato dal serbatoio aviario ed abbia cominciato a circolare tra uomini e suini negli anni appena precedenti lo scoppio della Spagnola e abbia avuto, da allora, i maiali come principale serbatoio e "laboratorio di trasformazione".

Che occasionalmente i ceppi suini di H1N1 possano infettare l'uomo è cosa nota da anni, ma bisogna sottolineare che, in genere, tale passaggio riguarda gli addetti ai lavori, non sembra produrre effetti gravi e non si traduce in contagio interumano e in focolai epidemici. Con un'unica eccezione nota, che aveva allarmato non poco le autorità sanitarie americane ed era sfociata in un dramma che avrebbe potuto avere conseguenze gravi.

Nel 1976, infatti, alcuni giovani militari americani di stanza a Fort Dix, nel New Jersey, furono colpiti da un H1N1 suino e uno di loro morì. L'allarme pre-pandemico fu immediato e le autorità sanitarie americane decisero di procedere ad una vaccinazione di massa che si rivelò inutile e nociva: il virus non superò in pratica i confini di Fort Dix, mentre gli anticorpi prodotti in risposta al ceppo vaccinico (un H1N1 suino attenuato) provocarono, in centinaia di soggetti assolutamente sani, una reazione immunitaria crociata, che si esprime

in un danno neurologico, in molti casi irreversibile, sotto forma di poliradicolonevrite demielinizzante acuta, tipo *Guillain Barré*.

Si registrarono, inoltre, una dozzina di decessi “sospetti”, a poche ore di distanza dalla somministrazione del vaccino. È insomma legittimo affermare che un allarme precipitoso fece sì che il vaccino facesse più danni del “virus da strada”.

Da allora i virus influenzali furono monitorati con grande attenzione, specialmente negli States, e si vide che oltre a H1N1 altri 3 sottotipi (H1N2, H3N1, H3N2) sono in grado di infettare il maiale, originando *poussées* epidemiche piuttosto regolari.

Negli ultimi anni del secolo scorso fu segnalata la comparsa, tra i maiali, di un **H1N2 “chimerico”**, con sequenze geniche provenienti parte direttamente dal *pool aviario* (i geni codificanti per due polimerasi), parte dall'**H3N2** umano (i geni della terza polimerasi e della neuraminidasi) e, per il resto (HA, M, NP ed NS) **dall'H1N1 “suino americano classico”**. Si trattava insomma di un **triplice ricombinante**, che fu causa di qualche allarme, ma che non sembra aver dato particolari problemi agli esseri umani.

Il virus suino sequenziato nell'aprile del 2009 dai CDC di Atlanta e per il quale, pochi giorni dopo, la WHO dichiarò l'allarme pandemico, con notevole e, secondo taluni, eccessivo tempismo non è, in fin dei conti, che un diretto discendente del suddetto triplice ricombinante, che ha acquisito due geni da un ceppo suino eurasiatico: il gene codificante per la neuraminidasi (sostituendo l'NA 2 di derivazione umana con una NA 1 appunto suina) e il gene M, codificante per la proteina della matrice. Una modifica tutto sommato minore, che non dovrebbe incrementare la virulenza del virus (in genere legata a mutazioni o ricombinazioni a carico dei geni codificanti per le proteine HA, PB1-2 e NS), ma che, per motivi non del tutto chiari, ne ha accresciuto la trasmissibilità.

La morte di alcuni bambini in Messico e la rapida diffusione negli States hanno probabilmente spinto le autorità sanitarie internazionali a optare per un allarme pandemico che ha rischiato di creare, a una trentina di anni di distanza dall'“incidente di Fort Dix”, più problemi e danni di quelli che l'ennesima metamorfosi (minore) di H1N1 sembrerebbe in grado di determinare.

Anche perché un uso eccessivo di vaccini (in larga misura sperimentali) e di antivirali potrebbe esercitare sul “nuovo” H1N1 un'indebita pressione selettiva: evento sempre pericoloso e in parte già messo in evidenza dal fatto che le uniche sequenze oggi in rapida evoluzione sono quelle codificanti per la neuraminidasi, su cui agiscono appunto i farmaci antivirali, che potrebbero essere un'arma fondamentale nei confronti di un eventuale mutante o ricombinate pericoloso e che rischiano di trasformarsi assai rapidamente in un'arma spuntata.

Ma soprattutto perché non c'è rischio peggiore, in questo campo, di quello legato ai falsi o comunque troppo precipitosi allarmi: potrebbe infatti accadere che, a forza di sentir gridare “al lupo, al lupo” e di fronte a numerosi “scampati falsi-pericoli” molte donne e uomini di questo pianeta si convincano che, nel III millennio, i rischi legati ai virus discendenti o imparentati con H1N1 non siano poi tanto grandi.

Con l'inevitabile conseguenza che all'arrivo del “lupo” (evento sempre possibile, anzi, in un certo senso, di giorno, in giorno più probabile) si perderebbe moltissimo tempo prezioso, prima di adottare energiche misure di **prevenzione primaria**, atte a ridurre le opportunità di trasformazione del virus nei suoi serbatoi naturali e artificiali ed a **contrastarne la diffusione** tra uomini ed (altri) animali: le uniche contromisure veramente efficaci ed urgenti in caso di allarme pandemico.