

Il ruolo degli Adverse Outcome Pathways (AOPs) nella Tossicologia Moderna

Miriam Midali, Melania Serafini, Barbara Viviani

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

IL RUOLO DEGLI ADVERSE OUTCOME PATHWAYS (AOPs) NELLA TOSSICOLOGIA MODERNA

Il riconoscimento dei limiti intrinseci degli attuali test regolatori su modelli animali, spesso inadeguati per identificare aspetti cruciali legati all'insorgenza di malattie complesse, insieme all'obbligo etico di ridurre al minimo l'uso di animali nei test e alla grande quantità di sostanze chimiche che necessitano di valutazione, ha portato allo sviluppo di approcci alternativi, oggi supportati dai progressi tecnologici e da una comprensione sempre più approfondita dei meccanismi di tossicità. Gli "Adverse Outcome Pathways" (AOPs) rientrano in questo contesto e sono parte di un programma lanciato dall'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE) che faciliti l'integrazione di dati in silico, in vitro, in vivo e di studi osservazionali sull'uomo in un unico quadro identificato con il termine di "Integrated Approaches to Testing and Assessment" (IATA).

Struttura degli AOPs: Dall' Evento Iniziale all'Esito Avverso ed organizzazione in AOP networks (AOPN)

Un AOP è composto da una serie di **Eventi Chiave** (Key Events, KEs) linearmente e causalmente connessi attraverso delle **Key Event Relationships**, (KERs). I KEs originano da un **Evento Iniziale** a livello **Molecolare** (Molecular Initiating Event, MIE), si sviluppano attraverso livelli biologici di complessità crescente e portano ad un **Esito Avverso** (Adverse Outcome, AO), per la salute o per l'ecosistema, di rilevanza regolatoria (Fig. 1). Attraverso questo schema un AOP (i) definisce la plausibilità biologica degli eventi osservati, (ii) favorisce l'integrazione di informazioni provenienti da diverse fonti necessaria a valutare la qualità dei dati, la coerenza dei risultati, la natura e la gravità degli effetti, dando un peso dell'evidenza a supporto di un quesito regolatorio e (iii) assembla gli approcci metodologici più adatti a misurare ciascun evento.

L'analisi dettagliata di questi modelli permette di identificare non solo specifici punti di intervento, ma anche lacune nei dati

esistenti, facilitando così la progettazione di strategie di valutazione mirate.

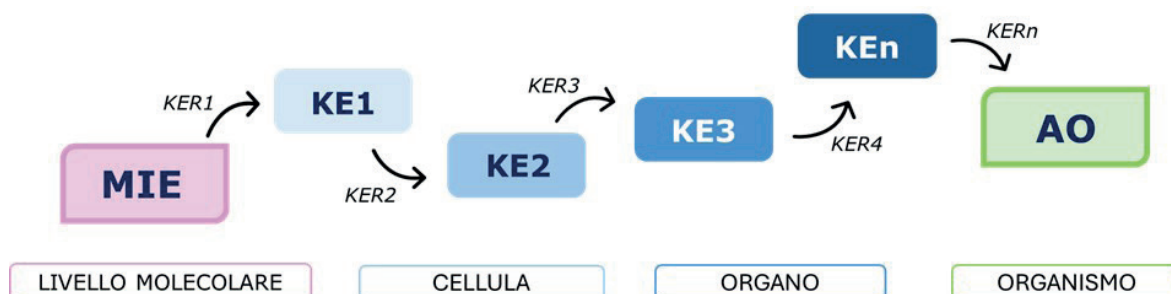


Fig. 1 - Rappresentazione schematica di un Adverse Outcome Pathway.

Ad oggi, alcuni degli AOP più sviluppati sono stati organizzati in Network (AOPN: AOP che condividono uno o più MIE, KE, AO) e analizzati al fine di identificare le KE più connesse e studiarle per descrivere meglio la complessità dei processi biologici.

L'AOP nella Valutazione del Pericolo e del Rischio

Gli AOP sono progettati per facilitare l'adozione di un approccio meccanicistico negli studi normativi ed epidemiologici che identificano un possibile legame tra l'esposizione a sostanze chimiche (ad esempio, pesticidi) e l'insorgenza di patologie complesse, difficili da studiare nei modelli animali.

Tutti gli AOP sviluppati vengono inseriti in AOP-Wiki, un grande database di raccolta promosso da OCSE, responsabile della loro adozione dopo un processo di revisione indipendente. Ad ogni AOP viene assegnato un ID in modo tale da renderlo facilmente rintracciabile.

L'organizzazione di AOP lineari in network e la loro analisi ha permesso l'identificazione di meccanismi biologici comuni a più AOP, evidenziando bersagli critici e facilitando il raggruppamento di sostanze chimiche con modalità d'azione simili. Gli AOPN forniscono inoltre indicazioni su quali test dare priorità, a supportare l'identificazione di

biomarcatori e a fornire un approccio alla modellazione di AOP quantitativi (qAOP) che possono rispondere a domande specifiche sul grado di perturbazione necessario per causare l'insorgenza di effetti avversi.

Agenzie regolatorie, quale l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare, hanno promosso lo sviluppo di diversi AOPs. Tra questi due esempi interessanti sono l'AOP 442 (Binding to VGSC during development leads to cognitive function decrease) nell'ambito della neurotossicità dello sviluppo e l'AOP 3 (Inhibition of the mitochondrial complex I of nigrostriatal neurons leads to Parkinsonian motor deficits), sviluppato per valutare l'evidenza alla base di un possibile legame meccanicistico tra l'esposizione ai pesticidi e l'aumento del rischio di malattia di Parkinson. Questi AOPs, di cui il #3 approvato dall'OECD, hanno fornito una base solida per lo sviluppo di strategie di valutazione nel contesto del Regolamento Europeo per i Pesticidi 283/2013 e 1107/2009. Inoltre, la comprensione del meccanismo ha aumentato la capacità di interpretare gli studi osservazionali sull'uomo, definendo un collegamento plausibile a un AO rilevante per l'uomo e quindi facilitando la contestualizzazione di questi studi in un futuro processo di valutazione del rischio.

Sfide e Prospettive Future

Nonostante i numerosi vantaggi offerti dagli AOPs, ci sono ancora alcune sfide da affrontare. Molti AOP presenti su AOP-Wiki, ad esempio, sono ancora incompleti o mancano di informazioni dettagliate, limitando il loro uso immediato in contesti normativi. Tuttavia, il continuo sviluppo e l'aggiornamento di questi modelli promettono di superare questi limiti, rendendo gli AOPs uno strumento sempre più potente nella tossicologia moderna.

Gli AOP, quindi, rappresentano una svolta fondamentale nella comprensione dei meccanismi di tossicità, fornendo un quadro strutturato e scientificamente valido per la valutazione del pericolo ed a supporto della valutazione del rischio.

Siti e letture consigliate

1. OECD Series on Adverse Outcome Pathways. SSN: 2415170X (online). https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-series-on-adverse-outcome-pathways_2415170x
2. Adverse Outcome Pathways: <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/testing-of-chemicals/adverse-outcome-pathways.html>
3. AOP-wiki: <https://aopwiki.org/>
4. AOP network: D. Knapen, M.M. Angrish, M.C. Fortin, I. Katsiadaki, M. Leonard, L. Margiotta-Casaluci, S. Munn, J.M. O'Brien, N. Pollesch, L.C. Smith, X. Zhang, D.L. Villeneuve. Adverse outcome pathway networks I: Development and applications. *Environmental Toxicology and Chemistry* 37(6) (2018) 1723-1733. <https://doi.org/10.1002/etc.4125>
5. Casi studio: OECD 2022 IATA 363 Case study for the integration of in vitro data in the developmental neurotoxicity hazard identification and characterisation using flufenacet. [https://one.oecd.org/document/env/cbc/mono\(2022\)25/en/pdf](https://one.oecd.org/document/env/cbc/mono(2022)25/en/pdf)
6. M. Alimohammadi, B. Meyburg, A.K. Ückert, A.K. Holzer, M. Leist. EFSA Pilot Project on New Approach Methodologies (NAMs) for Tebufenpyrad Risk Assessment. Part 2. Hazard characterisation and identification of the Reference Point. EFSA supporting publication EN-7794. (2023) 56 pp. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2023.EN-7794>