

# L'APPROCCIO DELL'AUTORITÀ EUROPEA PER LA SICUREZZA ALIMENTARE (EFSA) PER LA VALUTAZIONE DEI CANCEROGENI GENOTOSSICI



Riccardo Crebelli

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, ISS

**RIASSUNTO** - L'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha recentemente sviluppato un approccio per la valutazione del rischio dei cancerogeni genotossici. Ritenendo inadeguati i modelli matematici per la valutazione quantitativa del rischio alle basse dosi, l'EFSA ha proposto di usare il margine di esposizione (MOE) per definire le priorità nella gestione del rischio. Il MOE è definito dal rapporto tra l'esposizione d'interesse e la dose associata ad una incidenza tumorale del 10% nell'animale. EFSA ha concluso che un MOE uguale o superiore a 10.000 identifica un basso rischio individuale, a cui attribuire bassa priorità nella gestione del rischio. L'approccio proposto dall'EFSA non sostituisce ma affianca il principio dell'ALARA (as low as reasonably achievable); esso trova applicazione su contaminanti o altre sostanze non intenzionalmente aggiunte agli alimenti.

**Parole chiave:** cancerogeni, valutazione del rischio, sanità alimentare

**SUMMARY** - (*The European Food Safety Authority (EFSA) approach for risk assessment of genotoxic carcinogens*) - The European Food Safety Authority (EFSA) has recently developed a harmonized approach for risk assessment of genotoxic carcinogens. The EFSA approach does not rely on mathematical modelling; rather, the Margin of Exposure (MOE) is considered for priority setting and risk evaluation. The MOE is defined as the relationship between the dose associated with an incidence of 10% of induced tumors and human exposure. EFSA has considered that a MOE of 10,000 or greater is associated with a low risk and low priority for risk management actions. The approach proposed does not replace the ALARA (as low as reasonably achievable). It should find application on food contaminants, process by-product, and other substances unintentionally present in food.

**Keywords:** carcinogens, risk assessment, food safety

crebelli@iss.it

## Introduzione

La valutazione del rischio posto dalla presenza di sostanze cancerogene negli alimenti è un problema cruciale nell'ambito della sanità alimentare. La sensibilità delle attuali tecniche chimico-analitiche ha infatti rivelato in molti alimenti di uso corrente la presenza di minute quantità di agenti cancerogeni, il cui significato tossicologico e l'eventuale impatto sulla salute dei consumatori non sono stati ancora adeguatamente delucidati. La valutazione del rischio associato alla esposizione a basse dosi di cancerogeni è d'altra parte uno dei problemi più ardui in campo tossicologico, anche al di fuori delle problematiche di sanità alimentare.

La natura del fenomeno tumorale fa sì che al diminuire della dose diminuisca non la gravità della patologia ma la sua incidenza nella popolazione. L'esposizione a basse dosi di cancerogeni può essere quindi associata ad un aumentato rischio di tumore che, sebbene minimo a livello individuale, può ave-

re un impatto rilevante sulla popolazione qualora l'esposizione interessi larghe fasce della stessa. In considerazione delle basse incidenze tumorali attese, e della ridotta potenza dei saggi di cancerogenesi su animali, gli effetti della esposizione a basse dosi di cancerogeni non possono essere verificati sperimentalmente. In assenza di dati epidemiologici, il rischio di tumore per l'uomo viene pertanto stimato in base ai risultati ottenuti in studi su animali, condotti ad alte dosi per compensare la ridotta numerosità dei gruppi sperimentali. La valutazione degli effetti cancerogeni alle basse dosi, rilevanti per l'esposizione umana, richiede quindi l'estrapolazione dei risultati dall'animale all'uomo attraverso numerosi ordini di grandezza.

A tal fine sono stati sviluppati fin dagli anni '60 numerosi modelli matematici, che hanno in comune l'ipotesi di assenza di soglia nella relazione dose-risposta. Questa ipotesi, mutuata dalla radiobiologia, assume l'esistenza di un mecca- ▶

nismo *one-hit* alla base della trasformazione neoplastica, postulando che anche l'interazione di una singola molecola di cancerogeno con un bersaglio cellulare critico abbia una probabilità piccola ma finita di iniziare lo sviluppo neoplastico. L'evidente conservatorismo insito in questa ipotesi compensa le incertezze inerenti i meccanismi di cancerogenesi e l'estrapolazione dalle condizioni sperimentali all'uomo, e ha rappresentato un elemento a favore dell'impiego pragmatico dei modelli matematici per la stima del rischio cancerogeno per l'uomo.

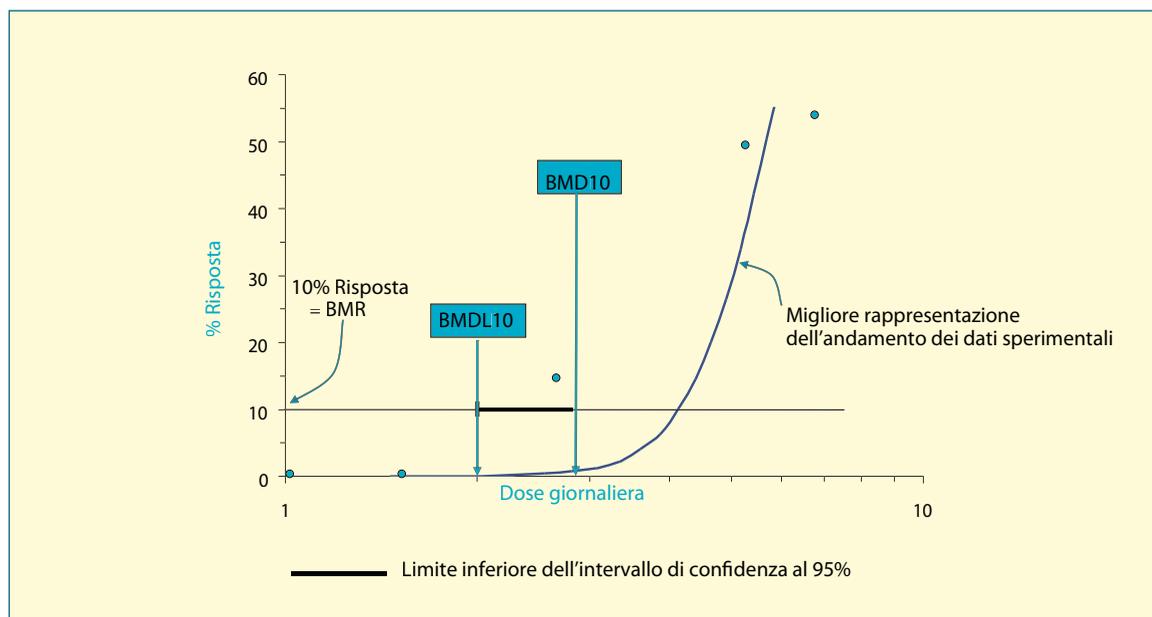
Nonostante l'esteso impiego di modelli matematici per la stima del rischio cancerogeno negli Stati Uniti e da parte di alcuni organismi internazionali, essi non sono stati finora utilizzati dai comitati scientifici istituiti a supporto tecnico-scientifico della Commissione Europea, in particolare dallo Scientific Committee on Food (SCF). L'SCF ha ritenuto che la modellizzazione del rischio cancerogeno non tenesse adeguatamente conto della complessa realtà del processo neoplastico, e che la stima quantitativa del rischio attraverso modelli matematici fosse criticamente influenzata dalla scelta del modello utilizzato (1,2). È infatti plausibile che una estrapolazione lineare del rischio cancerogeno per l'uomo dai dati ottenuti in esperimenti su animali possa non tenere adeguatamente conto di eventuali differenze tossicocinetiche o tossicodinamiche, della efficiente riparazione del DNA a basse dosi, e viceversa della proliferazione cellulare compensativa con effetto promotore, comune alle alte dosi applicate negli esperimenti

di cancerogenesi. Inoltre, i saggi di cancerogenesi hanno normalmente un disegno limitato, con solo due o tre gruppi di trattamento: questo fa sì che modelli disparati possano adattarsi finemente agli stessi dati sperimentali, portando a stime del rischio differenti anche per parecchi ordini di grandezza quando vengano usati per l'estrapolazione alle basse dosi (3). Per questi motivi nelle opinioni dell'SCF sui cancerogeni presenti negli alimenti non sono state formulate delle stime di rischio per l'uomo, ma è stata espressa la raccomandazione di perseguire il livello di esposizione più basso possibile (ALARA, "As Low as Reasonably Achievable") (1,2,4).

Il principio ALARA ha senz'altro dei vantaggi in quanto generalmente protettivo, trasparente e facilmente implementabile, non richiedendo dati quantitativi sugli effetti cancerogeni. L'applicazione del principio ALARA ha tuttavia anche delle importanti limitazioni pratiche. ALARA si applica infatti indistintamente a tutti gli agenti cancerogeni, senza riguardo per la potenza cancerogena né per il livello di esposizione e/o dimensione della popolazione esposta: ALARA non dà quindi informazioni di tipo quantitativo sul rischio cancerogeno, neanche in termini relativi, e non fornisce quindi elementi utili a definire priorità per eventuali interventi.

L'inadeguatezza di ALARA per la gestione del rischio chimico è emersa più volte nel corso dell'attività dell'SCF: un esempio è rappresentato dall'opinione sugli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) negli alimenti (2), il cui significato è stato in gran parte vanificato in assenza di una qualunque indicazione quantitativa utile ai fini della definizione dei livelli tollerabili degli IPA negli alimenti. Il dibattito su questo importante aspetto era dunque già nato in seno all'SCF ed è continuato nell'ambito dell'Autorità Europea di Sicurezza Alimentare (EFSA). All'inizio della sua attività il Comitato Scientifico dell'EFSA ha infatti identifica-





**Figura 1** – Ipotesi di relazione dose-risposta che mostra la BMR, BMD e BMDL per una incidenza tumorale del 10% oltre il controllo spontaneo. Modificata da: European Food Safety Authority (EFSA) (5).

to tra le sue priorità lo sviluppo di un approccio trasparente e scientificamente giustificato per la valutazione delle sostanze cancerogene e genotossiche. A tal fine, all'inizio del 2004 è stato istituito un gruppo di esperti *ad hoc*, a cui ha partecipato l'autore del presente articolo, che ha elaborato una proposta, adottata alla fine dello scorso anno dopo una estesa discussione interna e una consultazione pubblica online (5).

### L'approccio dell'EFSA per la valutazione dei cancerogeni genotossici

L'approccio proposto riguarda le sostanze cancerogene con proprietà genotossiche dovute all'interazione con il DNA, diretta o successiva alla loro trasformazione metabolica. Per queste sostanze viene generalmente postulata l'assenza di soglia nel meccanismo di genotossicità, diversamente da sostanze con altri bersagli cellulari (veleni del fuso, inibitori delle topoisomerasi) o meccanismo indiretto (stress ossidativo). La stessa procedura si applica inoltre alle sostanze cancerogene con meccanismo d'azione non identificato, per le quali si assume cautelativamente un meccanismo di tipo genotossico. Questo approccio è stato definito armonizzato, proponendosi come uno strumento co-

mune per l'attività di valutazione di tutti i comitati scientifici dell'EFSA, ed eventualmente degli altri organi consultivi comunitari.

In considerazione delle incertezze insite nei modelli per l'estrapolazione quantitativa del rischio cancerogeno, e dei limiti di ALARA, l'EFSA ha individuato nella definizione del margine di esposizione (MOE, Margin of Exposure) un approccio praticabile e utilizzabile in modo trasparente per la definizione di priorità per la gestione del rischio. Il MOE consiste nel rapporto tra un determinato punto della relazione tra dose e incidenza tumorale nell'animale e il livello di esposizione umana. Il MOE assomiglia superficialmente al margine di sicurezza usato in tossicologia (MOS, Margin of Safety), in cui il NOAEL sperimentale ("no observed adverse effect level") viene rapportato all'esposizione umana. Al contrario del MOS, il MOE non permette però di definire livelli di esposizione privi di rischio, in quanto la dose di riferimento è una dose efficace.

Il MOE è un approccio pragmatico, che non si occupa di definire livelli di rischio accettabile (di competenza del *risk management* piuttosto che del *risk assessment*) ma che presenta alcuni importanti vantaggi rispetto ad altri approcci: la trasparen-

za, non essendo richieste estrapolazioni con modelli matematici, e la possibilità di effettuare valutazioni comparative e di stabilire priorità, tenendo conto sia della potenza cancerogena che del livello di esposizione umana. Per definire il MOE è necessario prendere in considerazione una dose di riferimento associata ad un determinato effetto cancerogeno nell'animale. Diversi descrittori dell'attività cancerogena possono essere selezionati come *point of comparison* per derivarne il MOE: l'EFSA ha valutato criticamente il possibile impiego del TD50, del T25 e della Benchmark Dose (BMD), concludendo che quest'ultima rappresenta il *point of comparison* più adeguato per calcolare il MOE. La BMD infatti è calcolata tenendo conto di tutti i punti sperimentali e della forma della relazione dose-risposta, e risulta quindi meno sensibile a variazioni del disegno sperimentale. La figura 1 illustra schematicamente la relazione tra BMR, BMD e BMDL10. In particolare, è stato raccomandato di utilizzare la BMDL10 (Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10%), il limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% della dose associata con un incremento di tumori del 10%, in quanto questo è l'effetto più piccolo che può essere misurato come statisticamente significativo nella maggior parte degli studi. Il calcolo della BMDL10 non richiede quindi normalmente estrapolazioni al di fuori dell'intervallo dei dati sperimentali.

Per quanto riguarda la stima dell'esposizione, è stato ribadito che nel caso di sostanze cancerogene e genotossiche l'esposizione cumulativa ha maggiore rilevanza. L'EFSA ha raccomandato di



considerare vari scenari di esposizione per calcolare il MOE: per sostanze presenti in cibi di largo consumo, stime riferite all'intera popolazione possono essere adeguate; viceversa, per sostanze presenti in alimenti di nicchia, è necessario prendere in considerazione stime mirate sugli effettivi consumatori per evitare macroscopiche sottostime dell'esposizione.

Mentre il calcolo matematico del MOE non presenta particolari problemi, una volta stabilito il *point of comparison* e l'esposizione d'interesse, l'interpretazione del MOE in termini di rischio residuo pone degli interrogativi a cui, in base alle conoscenze attuali, non è possibile dare una rigorosa risposta scientifica. In particolare, resta aperto il problema della definizione del livello di esposizione tollerabile. L'EFSA ha ribadito che la definizione della accettabilità del rischio è di pertinenza del *risk management* piuttosto che del *risk assessment*, essendo basata anche su argomenti extrascientifici di tipo economico, etico, sociale, ma ha ritenuto possibile dare una indicazione sulla dimensione del MOE teoricamente associato ad un rischio minimo, che possa essere considerato di bassa priorità per il *risk management*.

Sulla base delle attuali conoscenze scientifiche l'EFSA ha ritenuto verosimile anche per le sostanze cancerogene e genotossiche l'esistenza di un livello di esposizione sotto il quale l'incidenza di tumori non risulti aumentata. È infatti evidente come, anche senza assumere l'esistenza di soglie nel meccanismo di cancerogenesi, esistano livelli di esposizione ai quali il rischio aggiuntivo di tumore si riduce fino ad annullarsi di fatto. In considerazione dell'esistenza di fattori a favore dell'assenza di linearità alle basse dosi, l'EFSA ha ritenuto inappropriata l'estrapolazione lineare dalla BMDL10 per identificare livelli di esposizione con rischio trascurabile. Ha invece preso in considerazione la variabilità inter- e intraspecifica nella suscettibilità individuale agli effetti mutageni e cancerogeni (a cui è stato attribuito un fattore 100), e a fattori aggiuntivi di incertezza relativi al processo di cancerogenesi (a cui è stato attribuito un altro fattore 100). Su tale base l'EFSA ha concluso che un MOE di 10.000 o più grande possa essere ragionevolmente

associato ad un basso rischio e a bassa priorità per interventi correttivi. Tale fattore può essere tuttavia incrementato se sussistono ulteriori incertezze, per esempio sulla natura dei dati sperimentali.

La bozza di opinione è stata sottoposta ad una consultazione pubblica in rete prima di essere adottata dal Comitato Scientifico dell'EFSA. Il punto più dibattuto, come prevedibile, è stata la proposta di applicare fattori di incertezza per stabilire la dimensione del MOE associato ad un rischio minimo. In generale è stato rilevato che, sebbene il fattore 10.000 proposto possa essere ritenuto pragmaticamente adeguato, la sua ripartizione in fattori di incertezza non appare scientificamente fondata in base alle conoscenze oggi disponibili. È stato inoltre notato che il *point of comparison* (la BMDL10) è una dose con effetto, non una soglia, e che l'applicazione di fattori di incertezza non riduce il rischio ad essa associato ma lo trasferisce alla parte sensibile della popolazione.

Sebbene le argomentazioni sollevate siano fondate, esse non intaccano tuttavia la validità del MOE come uno strumento pratico per la definizione di priorità nella gestione del rischio cancerogeno. L'approccio dell'EFSA non si propone la definizione di livelli di esposizione privi di rischio, un esercizio al di là della portata delle attuali conoscenze scientifiche; esso vuole invece indicare un livello di esposizione plausibilmente associato con un basso rischio, senza ricorrere ad estrapolazioni altamente aleatorie nella relazione tra dose e risposta cancerogena alle basse dosi. È da notare peraltro come un MOE di 10.000 rispetto alla BMDL10, indicato pragmaticamente dall'EFSA come un livello di rischio minimo, corrisponda ad un rischio individuale di  $10^{-5}$  stimato secondo il modello lineare conservativo della Environmental Protection Agency (EPA) (6).

È infine da menzionare il previsto campo d'applicazione dell'approccio dell'EFSA: esso è dedicato alla valutazione delle sostanze cancerogene presenti negli alimenti, naturalmente o come contaminanti ambientali o di processo, mentre non vuole rappresentare uno strumento per definire eventuali concentrazioni tollerabili di cancerogeni genotossici introdotti volontariamente (ad esempio, pesti-

ci), che rimangono banditi. Inoltre l'approccio proposto, finalizzato ad individuare possibili livelli di esposizione associati ad un basso rischio, non sostituisce ma affianca ALARA. L'EFSA ha ritenuto infatti opportuno sottolineare che la riduzione dell'esposizione ai cancerogeni genotossici debba essere realizzata, ove possibile, indipendentemente dall'ampiezza del MOE. La gravità della malattia neoplastica e le incertezze, che ancora sussistono, sui meccanismi di cancerogenesi chimica e sul significato di esposizioni multiple, suggeriscono infatti di minimizzare l'esposizione umana agli agenti cancerogeni e genotossici. ■

### Riferimenti bibliografici

1. European Commission, Scientific Committee on Food (SCF). *Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food* (expressed on 3 July 2002). SCF 2002. Available from [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out131\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out131_en.pdf)
2. European Commission, Scientific Committee on Food (SCF). *Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food* (expressed on 4 December 2002). SCF 2002. Available from [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out153\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out153_en.pdf)
3. Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (COC). *Guidance on a strategy for the risk assessment of chemical carcinogens*. COC 2004. Available from <http://www.advisorybodies.doh.gov.uk/coc/guideline04.pdf>
4. European Commission, Scientific Committee on Food (SCF). *Opinion of the Scientific Committee on Food on the safety of the presence of safrole (1-allyl-3,4-methylene dioxy benzene) in flavourings and other food ingredients with flavouring properties* (adopted on 12 December 2001). SCF 2001. Available from [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out116\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out116_en.pdf)
5. European Food Safety Authority (EFSA). *Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic* (Request No EFSA-Q-2004-020) (adopted on 18 October 2005). *The EFSA Journal* 2005; 282:1-31. [http://www.efsa.eu.int/science/sc\\_committee/sc\\_opinions/1201\\_en.html](http://www.efsa.eu.int/science/sc_committee/sc_opinions/1201_en.html)
6. Environmental Protection Agency (EPA). Guidelines for carcinogen risk assessment (Final Guidelines). *Fed. Register*. 2005; 61 (79):17960-18011.