

Inquinamento atmosferico in fase prenatale e predisposizione neonatale all'invecchiamento biologico

Vincenza Briscioli,

Gruppo ACP Pediatri per Un Mondo Possibile

I meccanismi con cui l'inquinamento atmosferico può nuocere al feto non sono ancora chiaramente definiti, anche se l'aumento dello stress ossidativo e dei fenomeni infiammatori da esso determinati hanno sicuramente un ruolo nell'eziopatogenesi dei danni. Una delle direzioni in cui si è orientata la ricerca in questo campo sta analizzando l'effetto diretto o indiretto delle sostanze inquinanti sui telomeri. Recentemente i risultati di un nuovo studio hanno rinforzato questa ipotesi. Per presentare la nostra analisi dell'articolo in cui sono stati descritti questi risultati è necessario introdurre alcuni concetti chiave riguardo i telomeri ed il loro ruolo biologico. Le estremità dei bracci dei cromosomi vengono chiamate **telomeri**. Essi oltre a prendere parte alla replicazione del DNA hanno la funzione di proteggere le terminazioni dei cromosomi e sono quindi essenziali per la loro stabilità funzionale e biochimica. Gli enzimi che intervengono nella costruzione e allungamento dei telomeri sono le **telomerasi**, attive solo nelle cellule della linea germinale: ciò significa che, a ogni replicazione nelle cellule somatiche, i telomeri umani si accorciano di un certo numero di paia di basi. Sono state formulate diverse teorie che associano il continuo accorciarsi dei telomeri con la senescenza delle cellule della linea somatica. I telomeri agirebbero come una sorta di **orologio biologico**, legato cioè a un numero massimo di mitosi (e di replicazioni del DNA), al termine del quale la cellula sarebbe troppo vecchia per essere mantenuta in vita e prenderebbe la via dell'apoptosi. Il meccanismo molecolare attraverso cui i telomeri troppo corti possono portare alla morte cellulare sembra essere legato alla perdita del loro corretto ripiegamento naturale. Numerosi sostenitori delle tecnologie per l'allungamento della durata della vita hanno da tempo focalizzato la loro attenzione sul ruolo dei telomeri e sulle possibilità di allungarli. Il mantenimento della lunghezza dei telomeri è un segno distintivo di molti tipi di cancro nei mammiferi. Nell'uomo, ad esempio, numerosi tumori sono in grado di aumentare l'attività della telomerasi, ottenendo una capacità di replicazione pressoché infinita [1]. Sono diversi gli studi che hanno evidenziato una correlazione tra accorciamento dei telomeri e le malattie dell'età avanzata quali i disturbi cardiovascolari, il diabete mellito e il cancro [2-3-4]. Vi sono inoltre studi che hanno dimostrato una correlazione tra l'inquinamento atmosferico e l'accorciamento dei telomeri [5]. In studi longitudinali si è osservata una riduzione della lunghezza telomerica a partire dai primi anni di vita fino all'età avanzata. In particolare in uno studio su più di 500 individui di età compresa tra 0 e 90 anni si è osservata una accentuazione della perdita dei telomeri nei primi anni di vita. Altri studi hanno evidenziato che il periodo prenatale e postnatale sono determinanti per la lunghezza telomerica e la variabilità inter-individuale di tale lunghezza si realizza nelle fasi precoci della vita; sembra infatti che lo stile di vita in età adulta abbia un impatto minore sull'accorciamento telomerico

[6-7]. Un ulteriore studio longitudinale di Bijnens nel 2017 ha misurato la lunghezza dei telomeri alla nascita e in età adulta e ha dimostrato una correlazione tra lunghezza dei telomeri nel tessuto placentare e nelle cellule buccali in età adulta, suggerendo così che l'esposizione ambientale all'inizio della vita può avere implicazioni sulla salute nelle fasi avanzate e che le malattie legate all'età possono avere la loro origine nell'ambiente della prima infanzia [8]. In questo numero di JAMA Pediatrics dei ricercatori europei hanno riportato un'associazione inversa tra l'esposizione all'inquinamento atmosferico durante il secondo trimestre della gravidanza e la relativa lunghezza del telomero valutata con tecniche di indagine molecolare [9]. Se confermata, questa intrigante scoperta potrebbe aiutare a chiarire il ruolo dei fattori ambientali quali l'esposizione a inquinanti atmosferici e la dinamica di lunghezza telomerica (TL) in utero, ovvero nel periodo di divisione cellulare più intensa dell'uomo.

Introduzione

I telomeri sono strutture nucleoproteiche presenti nella parte distale dei cromosomi, sono costituiti da sequenze ripetute e svolgono una funzione protettiva contro il deterioramento del cromosoma. Il telomero si accorcia a ogni divisione cellulare, la lunghezza dei telomeri (TL) è considerata un marcatore dell'età biologica ed è stata associata a malattie età dipendenti. La lunghezza di queste strutture è anche stata associata a fattori ambientali e allo stile di vita, in particolar modo a tutti quei fattori che inducono uno stress ossidativo e infiammatorio nell'uomo, tra i quali si ricorda l'obesità, il fumo di sigaretta, l'esposizione alla violenza, le situazioni stressanti, tutti fattori che mostrano l'estrema vulnerabilità dei telomeri ai radicali liberi (ROS). In un aggiornamento del 2015 del Global Burden Disease, il particolato atmosferico (PM 10, 2.5 ed < 0.1) è stato classificato al sesto posto come fattore di rischio che influenza la salute globale. L'aumento dello stress ossidativo e l'infiammazione sono stati proposti come meccanismi alla base dell'azione del particolato sulla salute umana. L'esposizione all'inquinamento atmosferico durante la gravidanza può avere effetti avversi sulla salute nel feto e nel neonato. La capacità del PM di provocare la formazione di radicali liberi ha portato all'ipotesi, che il logoramento telomerico sia influenzato dall'esposizione agli inquinanti atmosferici. Gli studi di popolazione e occupazionali hanno descritto associazioni sia positive che negative tra l'effetto del particolato e la lunghezza telomerica nell'adulto. In generale hanno dimostrato che l'esposizione al Black Carbon e al PM si associa alla presenza di telomeri più corti nell'adulto. Vi è un'ampia variabilità nella lunghezza dei telomeri alla nascita e sono stati ipotizzati e studiati differenti fattori che influenzano la stessa, quali il sesso, l'età paterna, il BMI materno in gravidanza, lo stress materno, il fumo in gravidanza, il livello di educazione materna, la residenza

in prossimità di strade ad alto traffico.

Obiettivo dello studio

Gli autori hanno quindi ipotizzato che l'esposizione al PM durante la gravidanza possa influire sulla lunghezza telomerica alla nascita; infatti oggi sempre più autori credono che la vita fetale rappresenti un'importante finestra critica temporale nella programmazione anticipata di malattie, che esordiscono poi in età adulta; lo studio dell'esposizione al particolato durante la vita fetale e della lunghezza dei telomeri alla nascita potrebbe aiutare a far luce sulle cause delle malattie, che sono correlate con le caratteristiche biologiche telomeriche. Gli autori hanno quindi valutato l'associazione tra esposizione prenatale al particolato e lunghezza del telomero alla nascita, attraverso lo studio della lunghezza dei telomeri (LT) dopo estrazione del DNA dal sangue del cordone ombelicale e dalla placenta, partendo dall'assunto che la LT è un marker di invecchiamento biologico in grado di fornire una memoria cellulare dell'esposizione allo stress ossidativo e all'infiammazione.

Materiali e Metodi

La popolazione studiata è stata selezionata da uno studio di coorte chiamato ENVIRONAGE (Environmental Influence on Ageing in Early Life) che ha reclutato 730 coppie madre-neonato nel periodo tra 2010 ed il 2014 nelle Fiandre (Belgio); tutte le donne avevano partorito a termine. L'analisi statistica è stata poi effettuata sulle coppie di cui erano disponibili tutti i dati riguardanti l'analisi telomerica, riducendo il campione finale a 641 coppie madre/neonato. Le principali caratteristiche delle coppie erano le seguenti: età materna 29.1 anni, BMI materno medio pari a 24.3. Il 54.8% delle donne erano primipare, il 34.8% secondipare. L'età gestazionale media era di 39.4 settimane. I neonati erano di sesso femminile per il 49.6%, con un peso medio di 3,451kg. È stata indagata l'esposizione settimanale materna al P.M. 2.5 (risultata mediamente pari a 13.5 µg/mc) e nei neonati sono state determinante le lunghezze dei telomeri, utilizzando la reazione a catena quantitativa di polimerasi (qPCR), dopo l'estrazione del DNA da sangue cordonale e da tessuto placentare. I livelli di esposizione residenziali delle madri sono stati rilevati attraverso stazioni di monitoraggio calibrate per stimare l'esposizione a particelle di diametro minore o uguale a 2.5 µm (PM2.5). L'esposizione materna residenziale durante la gravidanza al PM 2.5 è stata valutata mediante un metodo di interpolazione spazio temporale ad alta risoluzione. Le correlazioni tra la lunghezza telomerica e l'esposizione al PM 2.5 settimanale sono state studiate mediante analisi DLMs (distributed lag models) consentendo l'identificazione di finestre espositive critiche.

Risultati

Nel sangue da cordone e nel tessuto placentare delle 641 coppie madre/neonato studiate si è riscontrata una associazione significativa e inversamente proporzionale tra lunghezza dei telomeri e esposizione al PM 2.5 nel periodo gestazionale compreso tra la 12° e la 27° settimana. In particolare si è riscontrato che un incremento pari a 5 µg/mc di esposizione al PM 2.5 durante la gravidanza determinava un accorciamento dei telomeri estratti da DNA di sangue del cordone pari al -8.8% e da DNA di tessuto placentare pari al -13.5%. Vi era quindi una associazione negativa tra accorciamento telomerico ed esposizione al PM 2.5 nel secondo trimestre gestazionale.

Conclusioni

Le madri che erano state esposte a più alti livelli di PM 2.5 avevano neonati nel cui sangue cordonale si riscontravano telomeri più corti. Il periodo gestazionale tra la 12° e la 27° settimana è stato identificato dagli autori come finestra temporale critica e gli autori ipotizzano che ciò sia dovuto alla particolare funzione della barriera placentare e della circolazione materno-fetale: la barriera placentare nei primi mesi di gravidanza non consente il passaggio di molecole, come invece avviene nei mesi successivi, dove la placenta si assottiglia in concomitanza con lo sviluppo dei capillari fetali, che contribuiscono al miglioramento degli scambi materno-fetali sia di sostanze nutritive che di prodotti di scarto. Superato il secondo trimestre gestazionale si è osservato un effetto opposto, che viene spiegato come effetto adattativo, meritevole però di ulteriori studi e conferme. Gli autori sostengono che i risultati di queste osservazioni potrebbero spiegare l'esito degli inquinanti sulla salute nelle fasi avanzate della vita, poiché telomeri più corti alla nascita potrebbero determinare una minore capacità di attutire gli insulti nelle fasi di vita postnatale. Il particolato presente nell'aria può generare radicali liberi (ROS) direttamente attraverso le particelle adese alla sua superficie (reazione Fenton) o indirettamente attraverso reazioni metaboliche o mitocondriali o attraverso l'attivazione delle vie dell'infiammazione. I telomeri contengono una grande quantità di basi guaniniche, che sono assai vulnerabili ai radicali liberi; inoltre i radicali liberi possono determinare un aumento delle rotture del DNA, contribuendo a loro volta all'accorciamento telomerico durante la replicazione cellulare. Il particolato entra nel organismo materno principalmente attraverso la via inalatoria, le particelle con diametro inferiore 0.1 µm sono capaci di attraversare la barriera capillare possono quindi entrare in circolo ed essere trasportate in diverse parti del corpo. La possibilità che vi sia un passaggio transplacentare del particolato è tuttavia ancora discussa, in quanto vi sono limitate evidenze di tale passaggio e solo su animali da esperimento. Gli autori sostengono che l'elevato stress ossidativo del corpo materno e del feto possa essere una potenziale spiegazione delle loro osservazioni, anche se saranno necessari ulteriori studi di follow-up prospettici per chiarire il ruolo del particolato nell'accorciamento della lunghezza dei telomeri. Lo studio si aggiunge comunque al crescente numero di prove che indicano che un miglioramento della qualità dell'aria è determinante per la promozione della longevità molecolare dalla nascita in poi. I punti di forza di questo studio sono rappresentati dalla numerosità del campione e dall'adeguatezza dei metodi di analisi utilizzati. In particolare il modello di distribuzione utilizzato per l'analisi ha consentito un'indagine più dettagliata delle finestre di esposizione prenatale, identificando le settimane più critiche. I limiti dello studio sono rappresentati dalla scelta di analizzare la sola esposizione residenziale, senza considerare le altre possibili fonti espositive, quali ad esempio l'esposizione durante il lavoro o durante altre attività non svolte presso la residenza. In questo studio infine non è stato possibile valutare il comportamento dei telomeri durante l'intera gestazione, e non era disponibile la lunghezza telomerica parentale, altro fattore probabilmente determinante. Terminiamo questa revisione segnalando il commento degli editorialisti uscito sulla stessa rivista, che denuncia alcune criticità [10]. In primo luogo, anche se è vero che nell'adulto è stata dimostrata l'associazione tra la lunghezza telomerica più corta, valutata nei leucociti di pazienti con disturbi cardiovascolari e una riduzione della longevità,

non è assolutamente automatico trasferire questi dati a una popolazione cellulare completamente diversa quale è quella derivante dal sangue cordonale, in quanto il ritmo di divisione delle cellule staminali ematopoietiche può aumentare notevolmente nell'infiammazione cronica, tipica del processo di invecchiamento. Recenti ricerche inoltre hanno dimostrato che un aumento della lunghezza dei telomeri nei leucociti si associa a un aumento del rischio di sviluppo tumorale. Queste diverse caratteristiche dei telomeri, la cui lunghezza sembra aumentare nelle cellule tumorali e ridursi in quelle di pazienti con malattie cardiovascolari potrebbe far ipotizzare una spiegazione diversa del fenomeno. La lunghezza telomerica alla nascita potrebbe quindi non essere un marcatore di invecchiamento biologico, ma rappresentare una suscettibilità all'esordio di alcune patologie in età adulta. Pensare infine ai telomeri come a un orologio biologico può essere fuorviante in quanto la lunghezza dei telomeri non è identica in tutti gli individui alla nascita; infatti l'accorciamento dei telomeri potrebbe derivare da fattori genetici e ambientali e non essere solamente dovuto a fattori quali l'infiammazione e lo stress ossidativo. Nonostante queste criticità riteniamo lo studio un passo importante nella comprensione dell'influenza dell'esposizione ambientale sulla lunghezza dei telomeri sia in utero che alla nascita, ricordando anche come l'esposizione in utero sia rilevante in quanto questo è il periodo della vita con maggior intensità di divisione cellulare.

1. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature*. 1991;350(6319):569-573.
2. Haycock PC, Heydon E, Kaptoge S, et al. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014;349:g4227
3. Zhao J, Miao K, Wang H, et al. Association between telomere length and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(11):e79993
4. Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, et al. The association of telomere length and cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011;20(6):1238-50
5. Martens DS, Nawrot TS. Air pollution stress and the aging phenotype: the telomere connection. *Curr Environ Health Rep*. 2016;3(3):258-269 .
6. Chen W, Kimura M, Kim S et al. Longitudinal versus cross-sectional evaluations of leukocyte telomere length dynamics: age-dependent telomere shortening is the rule. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011;66(3):312.
7. Frenck Jr RW, Blackburn EH, Shannon KM. The rate of telomere sequence loss in human leukocytes varies with age. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(10):5607-10.
8. Bijnens EM, Zeegers MP, Derom C et al. Telomere tracking from birth to adulthood and residential traffic exposure . *BMC Medicine* 2017;15(1):205
9. Martens DS, Cox B, Janssen BG et al. Prenatal Air Pollution and Newborns' Predisposition to Accelerated Biological Aging. *Jama Pediatr*. 2017; 171(12):1160-67.
10. Factor-Litvak P, Susser E, Aviv A. Environmental Exposures, Telomere Length at Birth, and Disease Susceptibility in Later Life. *JAMA Pediatr*. 2017;171(12):1143-1144

Pediatri per Un Mondo Possibile

Gruppo di studio sulle patologie correlate all'inquinamento ambientale dell'Associazione Culturale Pediatri (ACP)
mail: pump@acp.it