



# BIOMARKER DI EFFETTO: Risultati preliminari

P R E V I E N I



Salute riproduttiva e contaminanti

<http://www.iss.it/prvn/>

Cinzia La Rocca, Sabrina Tait

Reparto di Tossicologia Alimentare e Veterinaria

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare

Istituto Superiore di Sanità

INTERFERENTI ENDOCRINI: DAI BIOMARKER ALLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO:  
IL PROGETTO PREVIENI

27 ottobre 2009 - Istituto Superiore di Sanità, Roma

P R E V I E N I



Salute riproduttiva e contaminanti

## PREVIENI integra

- osservazioni cliniche
- biomarcatori di esposizione
- biomarcatori di effetto

per valutare l'impatto dell'esposizione a interferenti endocrini sulla salute riproduttiva e sulle generazioni future.

INTERFERENTI ENDOCRINI: DAI BIOMARKER ALLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO:  
IL PROGETTO PREVIENI

27 ottobre 2009 - Istituto Superiore di Sanità, Roma



# PREVIENI

Lo studio si articola nei seguenti programmi di ricerca, con il coinvolgimento delle unità operative indicate:

*Studio su popolazioni animali sentinella in due oasi del WWF (UO 3)*

**Studio sull'infertilità *sine causa* (UO 1, UO 2, UO 3)**

*Studio satellite sull'esposizione transgenerazionale (trasferimento madre-neonato) a interferenti endocrini (IE ) (UO 1, UO 2, UO 3)*

## Studio sull'infertilità *sine causa* (UO 1, UO 2, UO 3)

- selezione della popolazione, coppie fertili e infertili (50 per 4 siti)

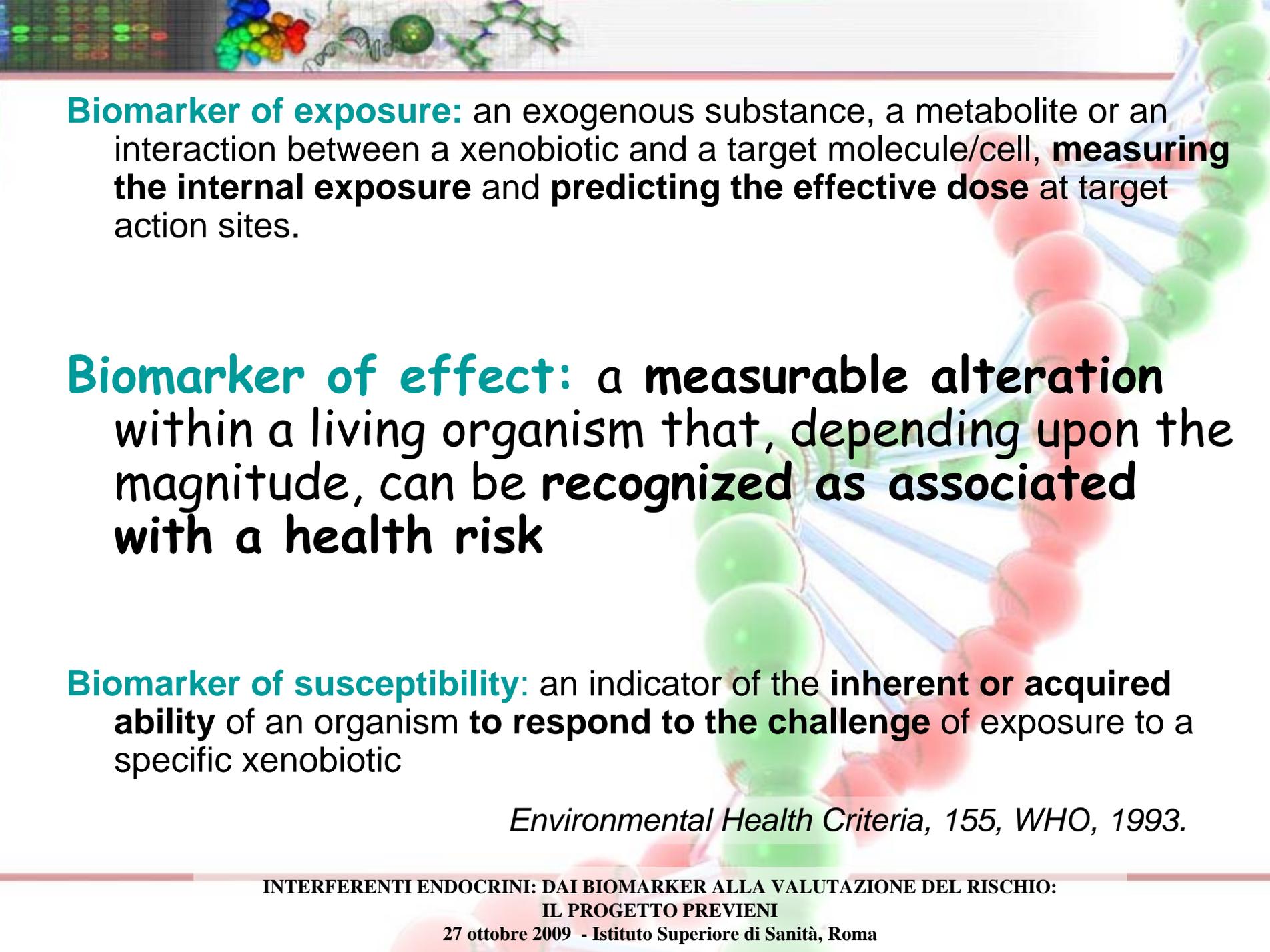
indagini anamnestiche, analisi cliniche e radiografiche



- prelievi di campioni : sangue, liquido spermatico

quantificazione di biomarcatori di esposizione

biomarcatori di effetto, in relazione alla presenza di interferenti endocrini (IE)



**Biomarker of exposure:** an exogenous substance, a metabolite or an interaction between a xenobiotic and a target molecule/cell, **measuring the internal exposure** and **predicting the effective dose** at target action sites.

**Biomarker of effect:** a measurable alteration within a living organism that, depending upon the magnitude, can be **recognized as associated with a health risk**

**Biomarker of susceptibility:** an indicator of the **inherent or acquired ability** of an organism **to respond to the challenge** of exposure to a specific xenobiotic

*Environmental Health Criteria, 155, WHO, 1993.*

# BIOMACATORI DI EFFETTO

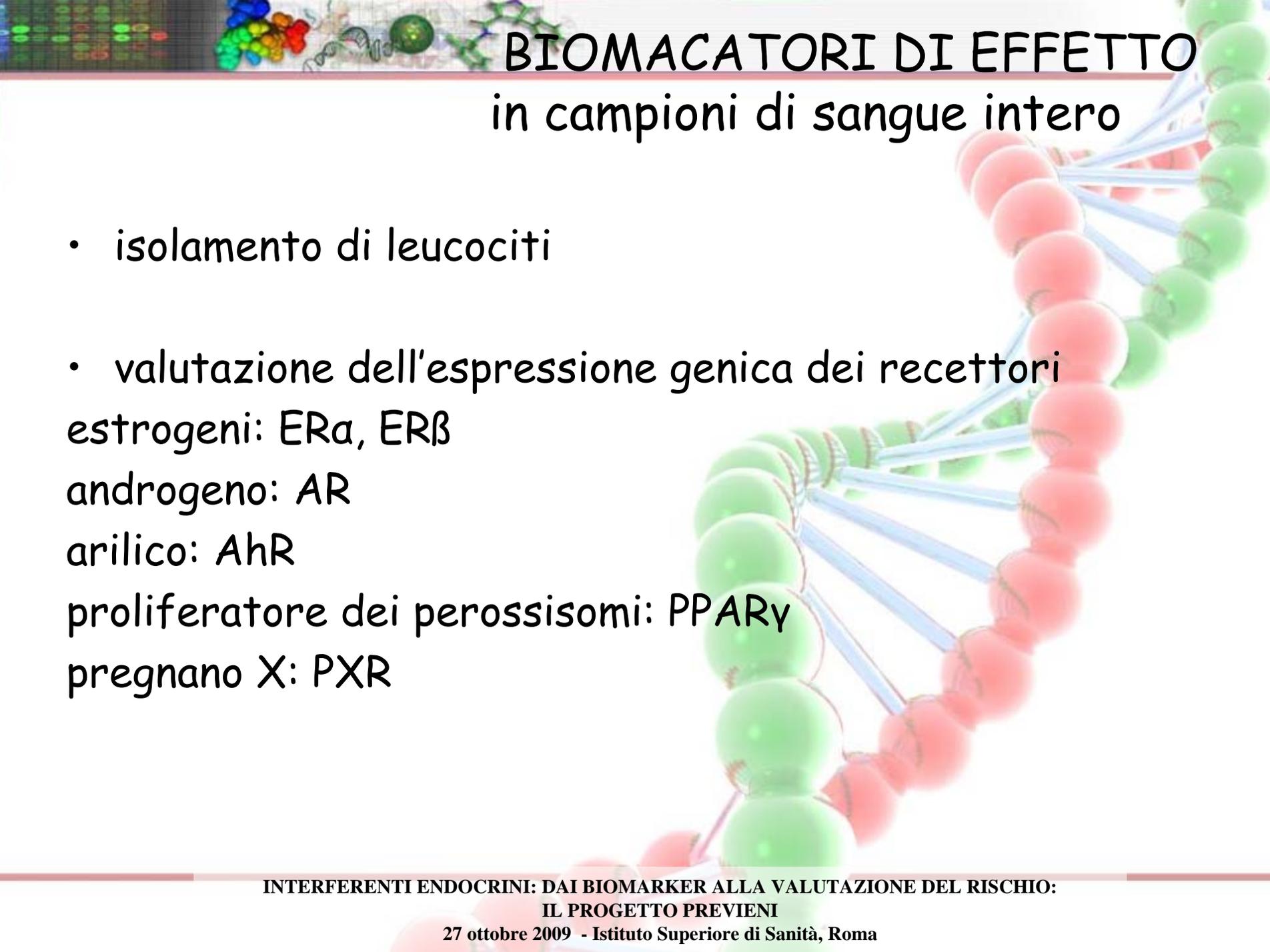
Ormoni fattori di crescita

Marcatori di processi infiammatori

Recettori nucleari

Oligoelementi

INDICATORI	MATRICI		
	sangue intero	siero	liquido seminale
leptina		X	X
TNF- $\alpha$	X		
IL-6	X		
IGF 1		X	X
ER- $\alpha$	X		X
ER- $\beta$	X		X
AR	X		X
AhR	X		
PXR	X		
PPAR- $\gamma$	X		
Zinco		X	X
Selenio		X	X



# BIOMACATORI DI EFFETTO in campioni di sangue intero

- isolamento di leucociti
- valutazione dell'espressione genica dei recettori estrogeni: ER $\alpha$ , ER $\beta$   
androgeno: AR  
arilico: AhR  
proliferatore dei perossisomi: PPAR $\gamma$   
pregnano X: PXR

# leucociti

- eosinofili, basofili, neutrofili, linfociti (B cell, T cell, natural-killer), monociti/macrofagi
- cellule del sistema immunitario,
- ruolo nei processi infiammatori,
- invadono altri tessuti: adiposo, epatico, intestinale, riproduttivo (es, ciclo ovarico e mestruale)
- patogenesi di malattie cardiovascolari, aterosclerosi, malattie autoimmuni (rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus)

più frequenti nelle donne che negli uomini tale differenza di genere è in relazione agli estrogeni

[Shim GJ](#), J Pathol. 2006

# recettori nei leucociti

- **PPAR $\alpha$** : regola il metabolismo degli acidi grassi ( $\beta$ -ossidazione) e degli aminoacidi. Il profilo di espressione genica nei leucociti riflette i cambiamenti metabolici legati allo stato nutrizionale ([Bouwens](#), BMC Genomics. 2008)
- **PPAR $\gamma$**  diminuisce la produzione mediatori proinfiammatori nei macrofagi, la sua attività è mediata dai trigliceridi circolanti ([Macias-Gonzalez M](#), J Nutr. 2008)
- **ER $\alpha$  e ER $\beta$** : sono espressi in maniera diversa nelle sottopopolazioni cellulari leucocitarie (Tcell , B cell) ([Stygar D](#), J Endocrinol 2007, Clin Endocrinol, 2006)
- **AR**: effetti di androgeni sulle cellule immunocompetenti mediati dal recettore androgeno ([Kuhnle U](#), J Steroid Biochem Mol Biol. 1994)
- **AhR**: riveste un ruolo importante nello sviluppo e differenziamento di un sottogruppo cellulare delle T cell (T helper cells, Th17 che producono IL-17) ([Kimura A](#), Proc Natl Acad Sci U S A. 2008)
- **PXR**: nei linfociti come nel fegato l'espressione delle proteine trasportatrici di xenobiotici è influenzata dal PXR, recettore che interviene nel metabolismo degli xenobiotici ([Albermann N](#), Biochem Pharmacol. 2005)

**PFOS, PFOA** in condizioni sperimentali nei ratti attiva i recettori **PPAR alpha**, **PXR** e **CAR** ([Ren H](#), *Reprod Toxicol.* 2009)

**DEHP** è un antagonista del 17beta-estradiolo nel legame **ER**, modula **AhR** e **PPARs** ([Ghisari M](#) *Toxicol Lett.* 2009, [Krüger T](#), *Toxicology* 2008)

**MEHP** antagonista del testosterone nel legame con **AR**, modulatore di **PPAR gamma** ([Laguë E](#) *Endocrinology.* 2008, [Desvergne B](#), *Mol Cell Endocrinol.* 2009)

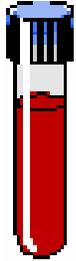
**As<sup>3+</sup>, Cd<sup>2+</sup>** alterano la capacità dei ligandi di **AhR** nell'indurre il processo di detossificazione ([Elbekai RH](#), *Toxicology* 2004)

**Hg** mostra effetti estrogenici in seguito a legame con **ER** ([Zhang X](#), *Biometals* 2008)

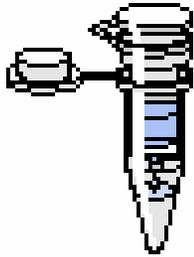
**As** induce infertilità maschile mediante inibizione dell'attività di **AR** ([Rosenblatt AE](#), [Burnstein KL](#), *Mol Endocrinol.* 2009)

**Cd** è un agonista di **ERα** e **AR** ([Johnson](#), *Nat. Med.*, 2003; [Martin](#), *Endocrinology*, 2003)

# metodo



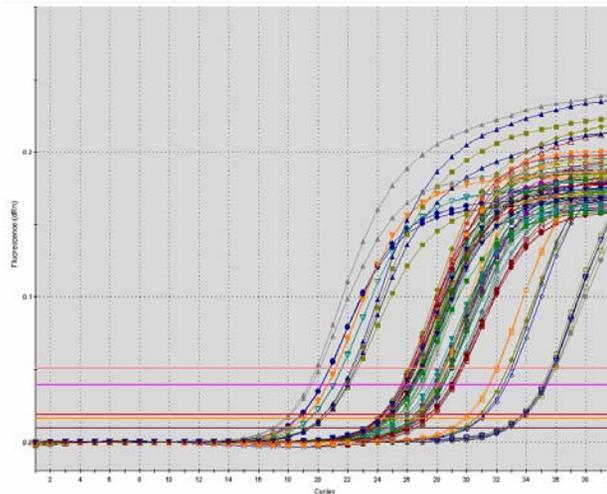
prelievo di sangue



isolamento della frazione leucocitaria

estrazione di RNA

retrotrascrizione a cDNA



real time RT-PCR:

analisi dell'espressione dei recettori nucleari

# Considerazioni sui dati preliminari

Il tessuto ematico in particolare i leucociti

- è una matrice umana accessibile
- è in grado di evidenziare una differenza di espressione genica recettoriale
- la misura dei singoli recettori presenta una variabilità minima

Analisi dell'espressione dei recettori permette di:

- rappresentare lo status recettoriale della popolazione fertile
- evidenziare possibili differenze dei livelli di espressione dei recettori tra popolazione fertile ed infertile

# biomarcatori di effetto



Cinzia La Rocca, Sabrina Tait,  
Federica Aureli, Francesco Cubadda,  
Chiara Frazzoli, Stefano Lorenzetti,  
Francesca Maranghi, Gabriele Moracci

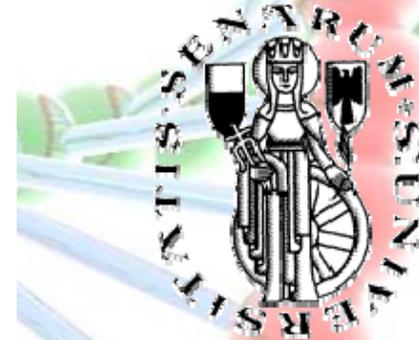
Coordinatore progetto Alberto Mantovani



P R E V I E N I



Salute riproduttiva e contaminanti



WWF



SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA

sito web progetto

a cura di Francesca Baldi

<http://www.iss.it/prvn/>