

Relazione finale "Corso di Alta Formazione per lo sviluppo di Strategie Terapeutiche Innovative" STRAIN

Esposizione professionale a pesticidi: studio degli effetti sul sistema endocrino e l'autoimmunità organo-specifica

Corsista: Antonio Suglia

Coordinatore: Dott.ssa Concetta Ambrosino

Laboratorio: Geni e ambiente presso Biogem S.c.a.r.l., Ariano Irpino (AV)

1. Introduzione

Lo sviluppo industriale ed, in particolare, quello dell'industria chimica ha portato alla produzione ed all'utilizzo su larga scala di prodotti chimici di sintesi, detti xenobiotici, quali materie plastiche, fertilizzanti, combustibili e solventi che sono divenuti in breve tempo indispensabili allo sviluppo sociale ed economico dei paesi industrializzati, e che tendono ad accumularsi e persistere nell'ambiente rappresentando, attualmente, un importante fattore di rischio per la salute umana.

I pesticidi utilizzati in agricoltura rappresentano certamente una delle classi di xenobiotici più diffuse nell'ambiente, tra i quali ci sono molecole che alterano la funzionalità del sistema endocrino, definiti per questo interferenti endocrini. Il Chlorpirifos (CPF) appartiene alla famiglia dei pesticidi organofosforici. Recentemente è stato scoperto che la tiroide potrebbe essere l'organo bersaglio di un'intensa esposizione al CPF, con la possibilità che ciò possa provocare degli effetti sulla funzionalità tiroidea. L'Etilentiourea (ETU) è il più comune metabolita dei fungicidi appartenenti alla categoria degli etilenbistiocarbamati. Quest'ultimo interferisce con la biosintesi degli ormoni tiroidei attraverso l'inibizione dell'attività della perossidasi tiroidea. Il nostro studio ha previsto l'utilizzo di modelli murini esposti ad una dieta contaminata a diverse dosi di CPF ed ETU presi singolarmente ed in combinazione.

2. Obiettivi

Il progetto di ricerca ha l'obiettivo di valutare gli effetti di questi due interferenti endocrini, assunti a differenti dosi sia singolarmente che simultaneamente, sulla funzionalità tiroidea e quella riproduttiva, attraverso due approcci sperimentali, *in vivo* ed *in vitro*, in grado di identificare con sufficiente sensibilità e precisione, gli effetti sull'equilibrio endocrino. Gli esperimenti in vivo sono stati condotti su topi trattati durante la gravidanza e l'allattamento con dosi pari a 0,1, 1, 10 mg/kg/die di CPF ed ETU, presi sia a dosi singole che in combinazione. La generazione F1 è stata trattata nello stesso modo per tutta la vita sin dal momento dello svezzamento.

Lo scopo del mio lavoro, in un primo momento, è stato quello di caratterizzare, attraverso analisi istologiche, il fenotipo dei fegati negli animali sottoposti a trattamento. Il secondo passaggio prevede l'analisi dell'espressione genica, attraverso RT-PCR, dei fegati degli animali trattati, al fine di individuare eventuali pathway metabolici alterati correlati ai fenotipi riscontrati.

3. Risultati

3.1 Analisi istologiche

L'analisi istologica dei fegati di maschi, sia nei topi trattati con CPF che in quelli con ETU, ha evidenziato steatosi epatica (fig. 1 e 2) e masse caratterizzate come adenomi.

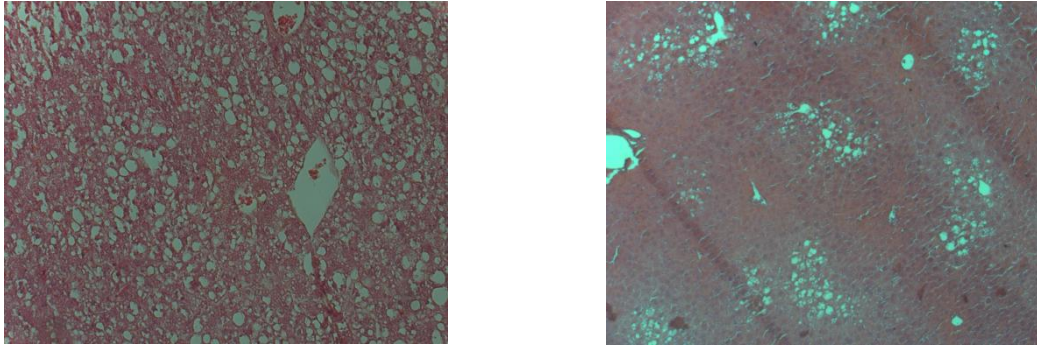


Figura 1 e 2 colorazione ematossilina eosina di tessuto epatico: steatosi epatica estesa in circa il 40% fegato di topo trattato con CPF ad alto dosaggio (ingrandimento 20X).

Nello specifico la gran parte degli animali trattati con CPF ed ETU a diverse concentrazioni ha mostrato la presenza di adenomi (fig. 3 e 4), con un marcato incremento negli animali che avevano una dieta ad alte concentrazioni di CPF (10 mg/Kg/die) ed in quelli con una dieta che prevedeva l'esposizione ad entrambi i pesticidi alle concentrazioni di CPF ed ETU rispettivamente di 0,1 mg/Kg/die e 1 mg/Kg/die.

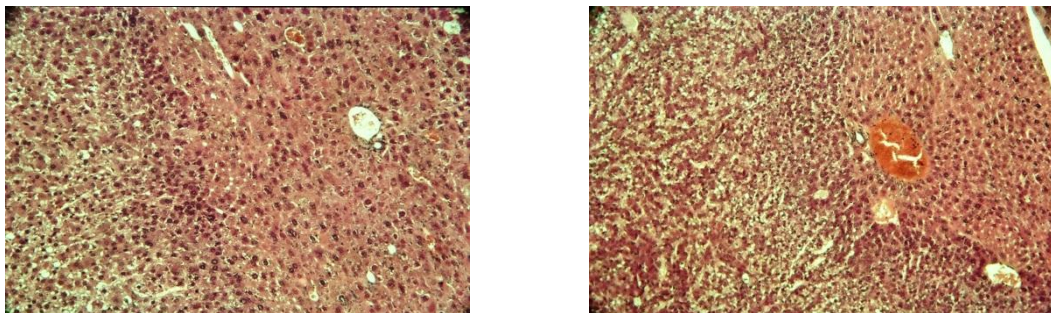


Figura 3 e 4 colorazione ematossilina eosina di tessuto epatico: adenoma e fegato steatosico in animali trattati.

Attualmente è in corso un'analisi immunoistochimica per indagare sui meccanismi molecolari alla base dell'infiammazione che causa l'insorgenza della steatosi e degli adenomi.

3.2 Analisi di Real Time PCR

Al fine di valutare gli effetti dei due interferenti endocrini sulla regolazione della tiroide, abbiamo indagato sull'espressione dell'enzima deiodinasi 1 nei fegati degli animali maschi trattati. L'enzima deiodinasi 1 (DIO1) è un'isoforma specifica espressa in fegato e reni dove esplica la sua azione convertendo il precursore dell'ormone tiroideo (T4) nella sua forma biologicamente attiva (T3). I risultati dell'analisi di RT-PCR hanno mostrato una up-regolazione di DIO1 in tutti i gruppi di maschi trattati rispetto al controllo. Questo risultato correlato ai bassi livelli sierici di T3, riscontrati nei topi trattati, suggerisce un probabile meccanismo di compensazione del fegato attivando l'espressione di DIO1 e quindi la capacità degli epatociti di convertire T4 nella sua forma biologicamente attiva.

4. Struttura ospitante e tutor scientifico

La mia attività di stage si è svolta presso l'istituto Biogem S.C.A.R.L. ad Ariano Irpino. L'istituto di ricerca è attivo da dieci anni ed ha come partner il CNR, importanti università italiane, e la fondazione Neuromed. Le attività di ricerca svolte hanno come tematica comune lo studio dei geni e dei meccanismi molecolari coinvolti nelle patologie umane utilizzando modelli animali. L'obiettivo principale è quello di sviluppare modelli diagnostici e terapeutici innovativi. La ricerca in Biogem è focalizzata in cinque grandi linee: Biologia dello Sviluppo, Immunologia, Nefrologia Traslazionale, Oncologia Molecolare, e Geni-Ambiente. L'attività di ricerca è stata svolta presso il laboratorio Geni-Ambiente coordinato dalla Prof.ssa Concetta Ambrosino. L'attività di ricerca della Prof.ssa Ambrosino si focalizza principalmente nello studio degli effetti di contaminanti ambientali sul sistema endocrino.



Sede di Biogem Ariano Irpino