

Dipartimento di Scienze Biomediche

Sezione di Citomorfologia



Università di Cagliari

**XXXIX Congresso
dell'Associazione Italiana di Epidemiologia
Milano, 28-30 Ottobre 2015**

**STUDIO MULTICENTRICO ITALIANO SULL'INTERAZIONE GENI-AMBIENTE
NELL'EZIOLOGIA DEI LINFOMI: ATTIVAZIONE DEL RECETTORE ARILICO
(AhR) COME BIOMARCATORE DELL'ESPOSIZIONE ALLA TCDD**

Sonia Sanna, PhD

PRIN2007



Fondazione
Banco di Sardegna



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

STUDIO MULTICENTRICO

Responsabili Scientifici

Università di Cagliari:

Prof. Pierluigi Cocco

Prof.ssa Maria Grazia Ennas

Partecipanti all'Unità di Ricerca:

- Azienda Sanitaria ASL8 CAGLIARI
- Azienda Sanitaria ASL3 NUORO
- Università di Cagliari
- Università di Bari
- ISPO Firenze
- Università di Firenze
- Università di Novara
- Università di Verona

Tabella 1. Stato attuale dello studio Multicentrico Italiano

	CAGLIARI		FIRENZE		BARI		NOVARA		PERUGIA		VERONA	
	Casi	Controlli	Casi	Controlli	Casi	Controlli	Casi	Controlli	Casi	Controlli	Casi	Controlli
Soggetti identificati	288	853	202	186	216	94	97	50	48	23	2	0
Soggetti non rintracciati*	12	231	2	24	0	0	1	0	0	0	0	0
Rifiuti	36	137	9	41	0	0	3	1	0	0	0	0
Soggetti intervistati	196	196	182	145	167	82	93	49	48	23	2	0
Campioni biologici	221	151	135	127	205	80	87	48	46	22	2	0
Contatti in corso	44	289	0	12	11	12	10	8	1	-	1	0

Età Casi: 20/74 – Controlli: Assistiti SSN Sardegna – Altri Centri: Ricoveri Ospedalieri
 Intervista con questionario: Storia sanitaria, stile vita, storia residenziale e lavorativa.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

- Valutare il ruolo dell'attivazione del recettore AhR (Aryl Hydrocarbon Receptor) quale fase intermedia del processo di linfomagenesi indotto da diossine.
- Sfruttando l'attivazione del recettore come biomarcatore siamo in grado di valutare la presenza dello xenobiotico (TCDD) nel siero campione in studio per cui stiamo effettuando uno Screening nella coorte che comprende pazienti affetti da linfoma e controlli sani.
- L'evidenza di attivazione del recettore arilico, indicata quale principale meccanismo d'azione delle diossine e di composti diossino simili, ci consente di considerare come non esposti i soggetti negativi al test, riducendo così i costi della determinazione diretta delle diossine.

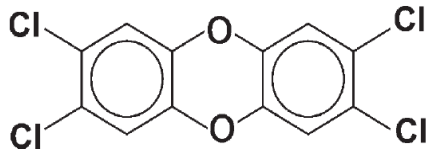
PCDD

Policlorodibenzodiossine

PCDF

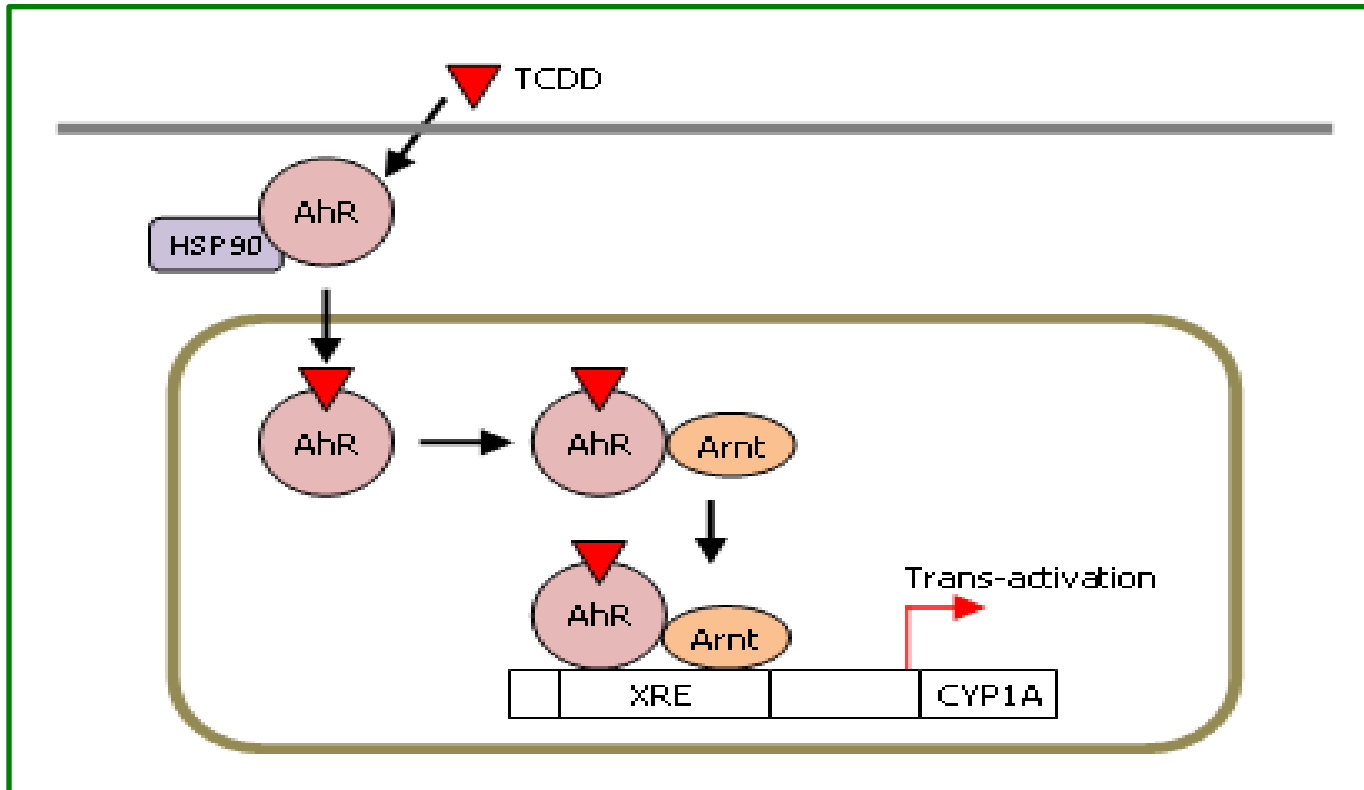
Policlorodibenzofurani

- Persistent Organic Pollutants (POPs), definita dalla Convenzione di Stoccolma promossa dall'Environmental Program delle Nazioni Unite nel 2001.
- Presentano similitudini nella struttura chimica, nelle proprietà fisiche e nell'azione biologica
- Dotate di elevata termostabilità, liposolubili, resistenti alla degradazione chimica e microbiologica
- Persistono nell'ambiente, si accumulano nel siero e nei tessuti ricchi di grassi dell'uomo e degli animali
- Distribuiti in modo ubiquitario nell'ambiente e tra i composti tossici più conosciuti vi è la TCDD



TCDD: 2,3,7,8 Tetraclorodibenzo-*p*-diossina

MECCANISMO D'AZIONE DELLA TCDD

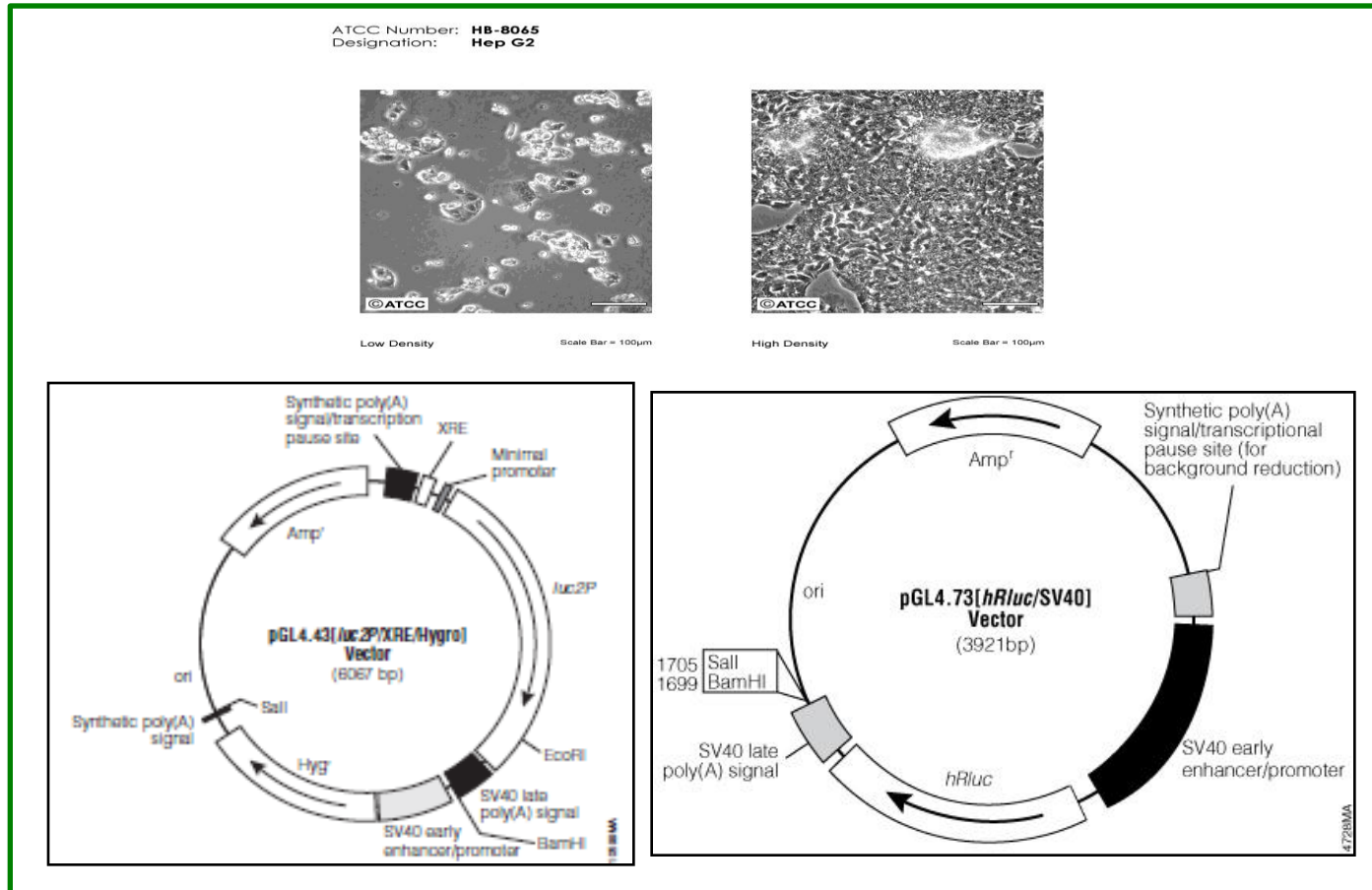


AhR:

- Coinvolto nell'organogenesi
- Detossificazione di endo e xenobiotici
- Implicato in diverse risposte organo-specifiche indotte dalla diossina.

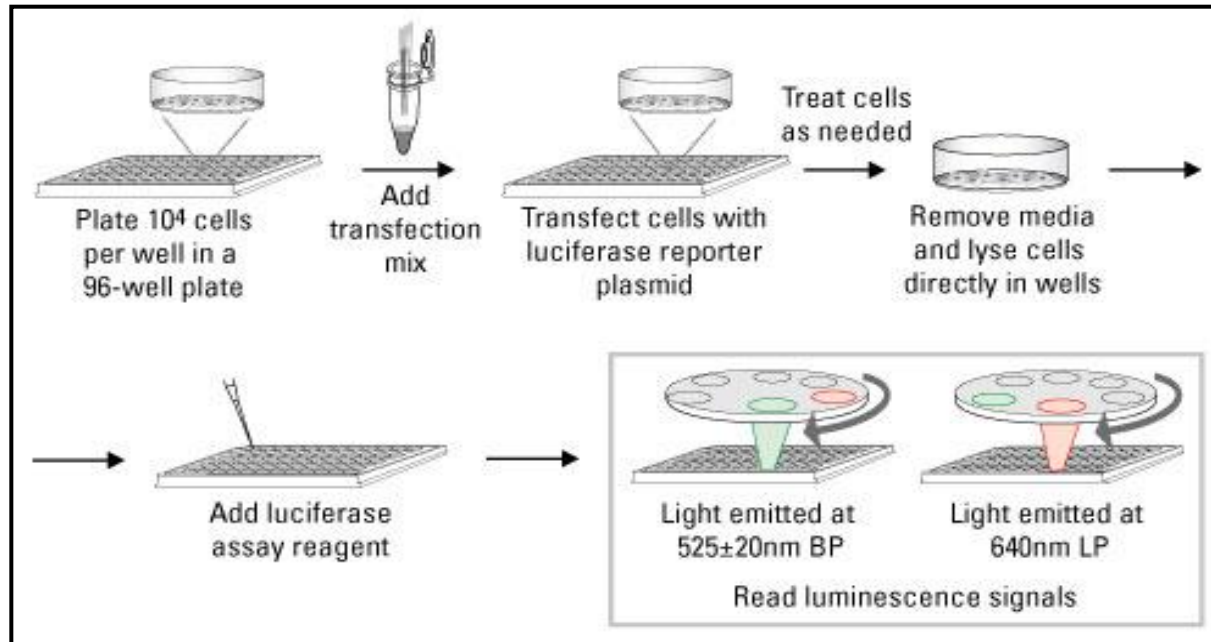
FASI DELLA SPERIMENTAZIONE IN VITRO DELL'ATTIVAZIONE DEL RECETTORE AhR

Transfezioni su cellule HepG2 con utilizzo di Sistemi Reporter

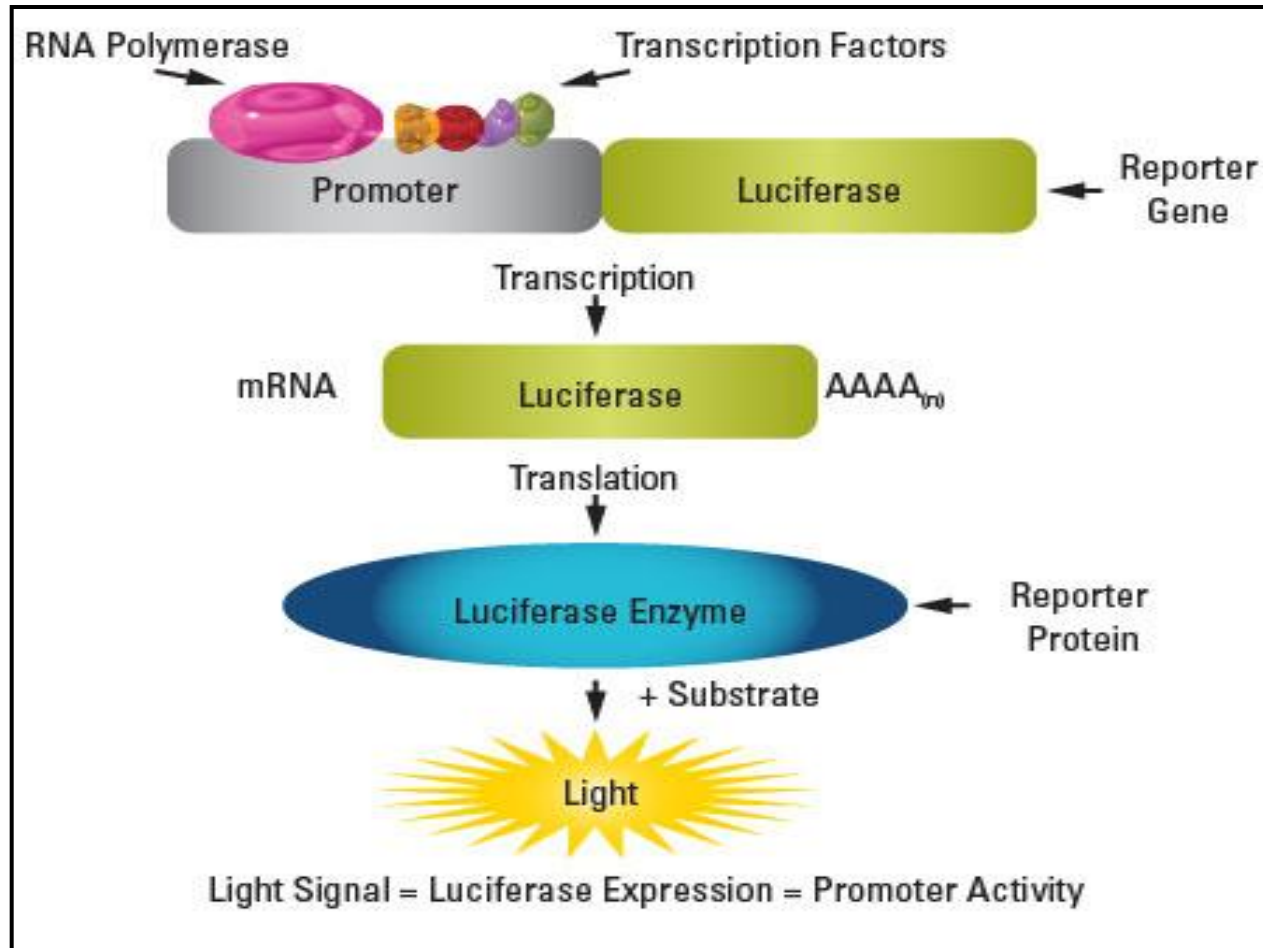


Saggi Luminometrici Dual-Luciferase Assay Sistem

PROTOCOLLO



SCHEMA DELLA REAZIONE



L'enzima luciferasi eventualmente espresso, catalizza la carbossilazione ossidativa della luciferina (substrato), causando la luminescenza.

La quantità di luce rilevata correla con l'espressione della luciferasi ed è direttamente proporzionale all'attività del promotore attivato dal recettore.

ANALISI EPIDEMIOLOGICA

Risultati preliminari -1-

Descrizione della popolazione in studio

	N	Genere (M, F, M/F)	Età (media; ds)	AhR + (N, %)
Controlli	189	101, 88, 1,15	56,0; 14,0	56, 29,6
<i>Dlbcl</i>	62	39, 23, 1,70	58,3; 16,17	10, 16,1
<i>Follicolare</i>	41	21, 20, 1,05	55,2; 12,95	16, 39,0
<i>LLC</i>	39	21, 18, 1,17	66,5; 10,31	15, 38,5
<i>Hodgkin</i>	58	23, 35, 0,66	39,2; 14,91	17, 29,3
<i>Mieloma m.</i>	50	27, 23, 1,17	64,8; 10,45	12, 24,0
<i>Altri</i>	76	50, 26, 1,92	60,0; 11,40	20, 26,3
<i>Linfoma nas</i>	17	11, 6, 1,83	59,6; 14,41	9, 52,9
Tutti i linfomi	343	192,151, 1,27	57,0; 15,34	99, 28,9

- Rischio di linfoma per tutti i sottotipi combinati, e per i maggiori tipi istologici, classificati secondo la Classificazione WHO del 2008.
- Calcolo dell'Odds ratio e intervallo di confidenza associato alla positività AhR per ciascun maggiore tipo istologico di linfoma, mediante regressione logistica non condizionale, aggiustando per età e genere.

ANALISI EPIDEMIOLOGICA

Risultati preliminari -2-

	N	AhR + (N, %)	OR (I.C. 95%)
Controlli	189	56, 29,6	-
<i>Dlbcl</i>	62	10, 16,1	0.6 (0.3 – 1.3)
<i>Follicolare</i>	41	16, 39,0	2.0 (1.0 – 4.0)
<i>LLC</i>	39	15, 38,5	2.3 (1.0 – 5.0)
<i>Hodgkin</i>	58	17, 29,3	1.2 (0.6 – 2.5)
<i>Mieloma m.</i>	50	12, 24,0	1.1 (0.5 – 2.3)
<i>Altri</i>	76	20, 26,3	1.2 (0.6 – 2.2)
Tutti i linfomi	343	99, 28,9	1.2 (0.8 – 1.9)

CONCLUSIONI

- I nostri risultati mostrano un'associazione tra l'attivazione del recettore AhR ed il rischio di linfoma follicolare e di leucemia linfatica cronica.
- La presenza di attivatori del recettore AhR nella popolazione studiata è risultata pari al 29%; studi successivi permetteranno di capire in quale misura altre esposizioni, lavorative, ambientali, dietetiche o da stili di vita, possono essere co-responsabili di questa attivazione .
- Uno dei limiti del Saggio Luminometrico è la mancata quantificazione della diossina presente nel siero. Il test è sensibile, ma di specificità sconosciuta fino al momento in cui sarà possibile dosare la diossina negli stessi campioni con precisione.
- La fase successiva prevede l'esecuzione del dosaggio di TCDD e TCDF nel siero in gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa ad alta risoluzione nei soli campioni che attivano il recettore AhR, il che permetterà di contenere i costi estremamente elevati di tali determinazioni.
- Valutare adeguatamente la specificità del test di attivazione del recettore arilico quale biomarcatore della contaminazione da diossine.

RINGRAZIAMENTI

Prof. Pierluigi Cocco
Prof.ssa M.Grazia Ennas
M.Grazia Zucca PhD
Arianna Murgia Intervistatrice

Università degli Studi di Cagliari

Centro di Novara

*Unità di Statistica Medica e SCU Epidemiologia dei Tumori,
Dipartimento di Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale
"Amedeo Avogadro", Alessandria, Novara, Vercelli e CPO-Piemonte,
Novara*

Centro di Firenze

Istituto per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, ISPO Firenze

Centro di Perugia

Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia

Centro di Bari

Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Bari

Centro di Verona

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona

Dichiarazione di Assenza Conflitti d'Interesse degli Autori

Il lavoro è stato finanziato dall'Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro.

L'autrice del presente lavoro e tutti i collaboratori dichiarano assenza di conflitti di interesse e di rapporti diretti o indiretti con enti, fondazioni, istituzioni, sponsor, organizzazioni non governative, o qualsiasi altra organizzazione i cui interessi potrebbero influenzare la conduzione delle analisi e le conclusioni del presente lavoro.