



Università Politecnica delle Marche

Corso di laurea: Scienze Biologiche

Effetti del dietilen-glicole dibenzoato e del BPA sul metabolismo lipidico di *Danio rerio*

Tesi di laurea di Michele De Santis

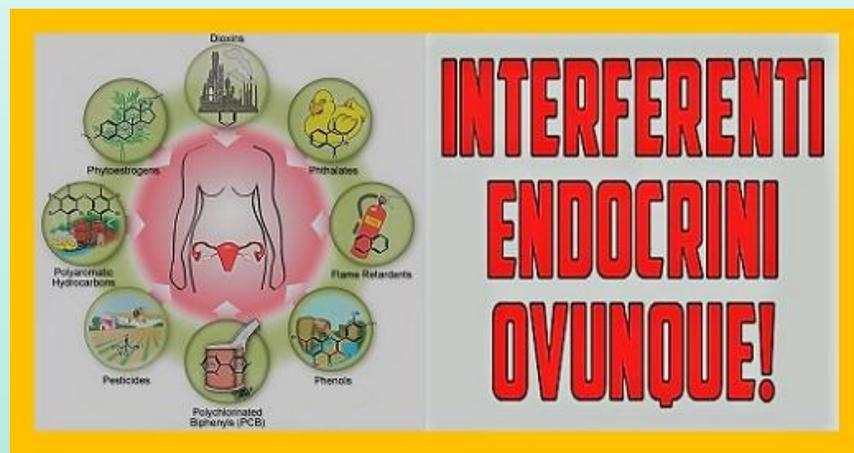
Relatore: Oliana Carnevali

Sessione autunnale ottobre 2021

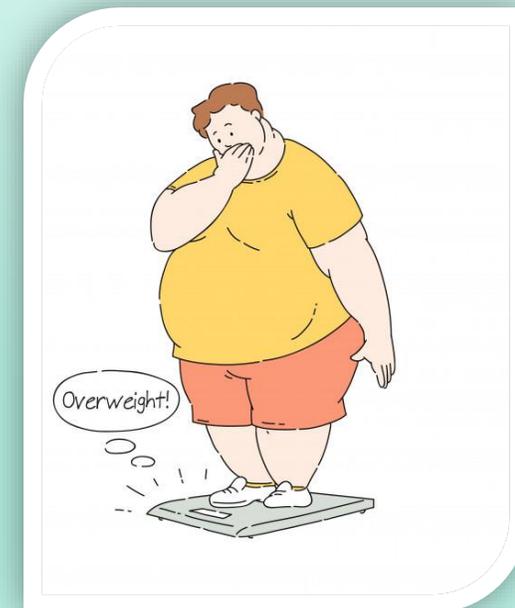
Anno accademico 2020/2021

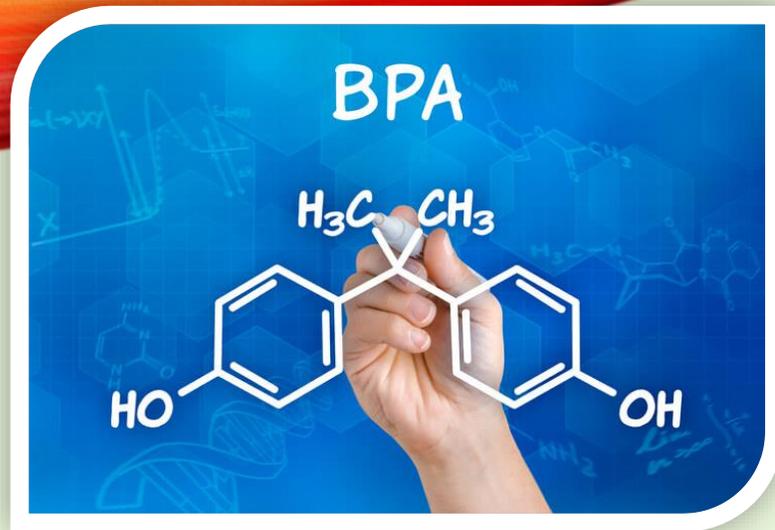
INTRODUZIONE

Un **Interferente Endocrino (EDC)** è una **sostanza esogena**, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo o della sua progenie.



Queste sostanze chimiche (**obesogeni**) inducono l'aumento del peso agendo sulle cellule adipose alterando la regolazione dell'appetito e il senso di sazietà e/o modificando il tasso metabolico favorendo l'immagazzinamento calorico

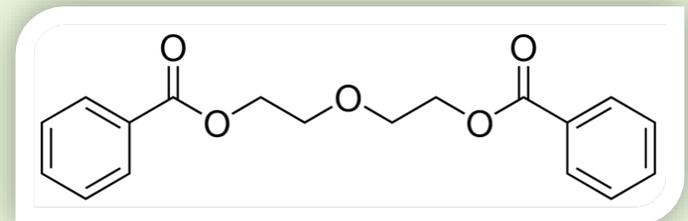




Il **Bisfenolo A (BPA)** è prodotto sin dagli anni '60 dello scorso secolo ed è una sostanza chimica molto utilizzata nella produzione delle **plastiche in polycarbonato** (molto diffuse per le proprietà di **trasparenza, resistenza termica e meccanica**), utilizzate nei recipienti per **uso alimentare**, e nelle resine epossidiche che compongono il rivestimento protettivo interno presente nella maggior parte delle lattine per alimenti e bevande.

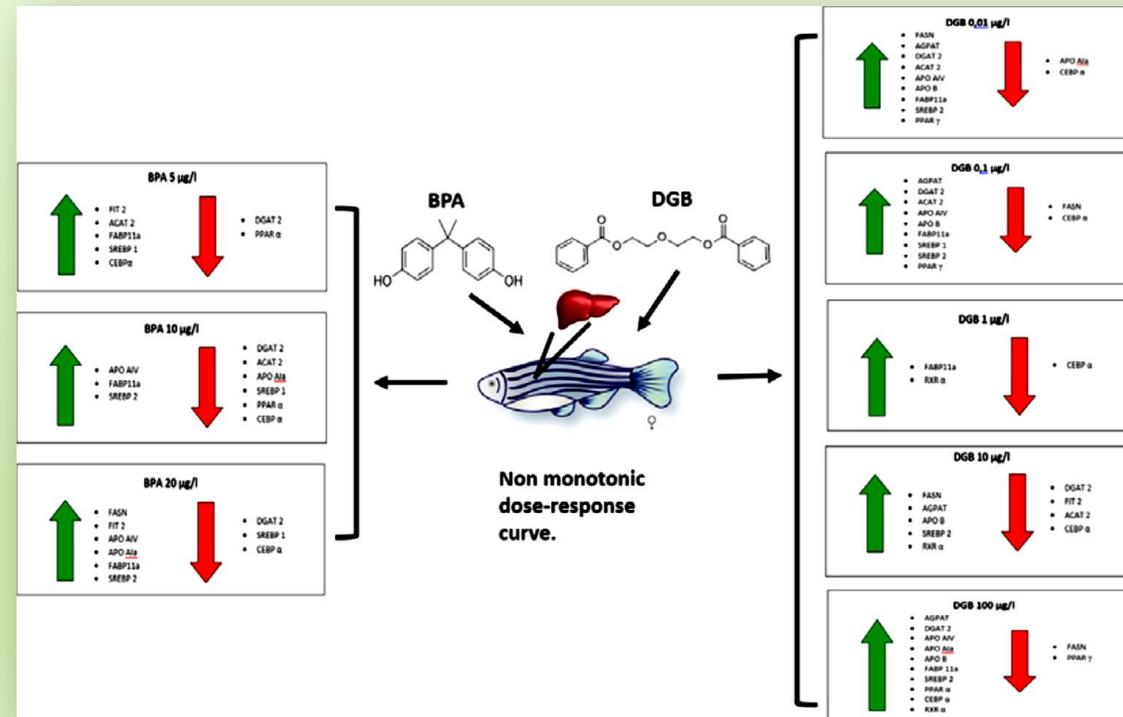


Il **dietilenglicole dibenzoato (DGB)**, un'alternativa approvata agli ftalati nella produzione di prodotti in plastica e lattice è invece meno abbondante e i suoi effetti sono quasi del tutto sconosciuti



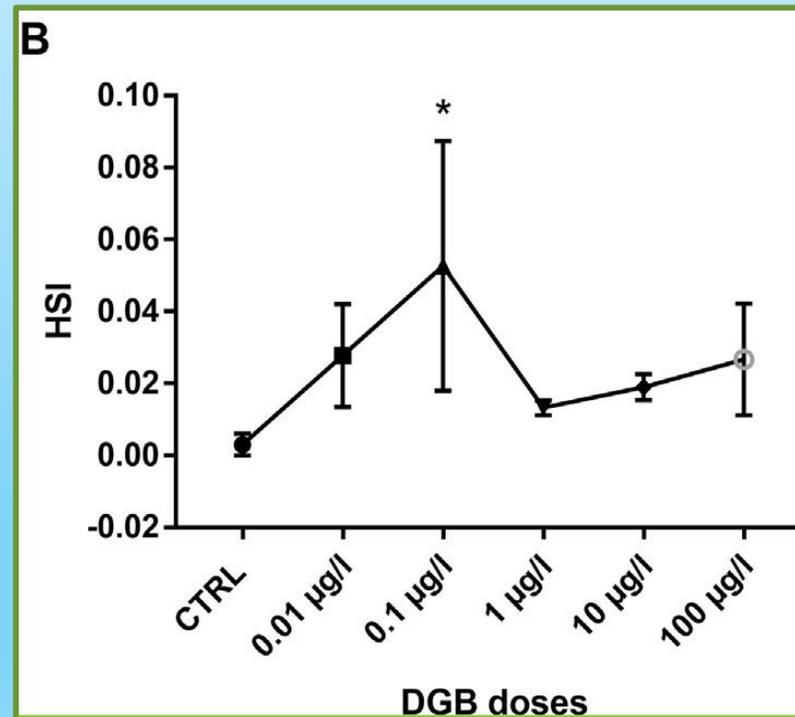
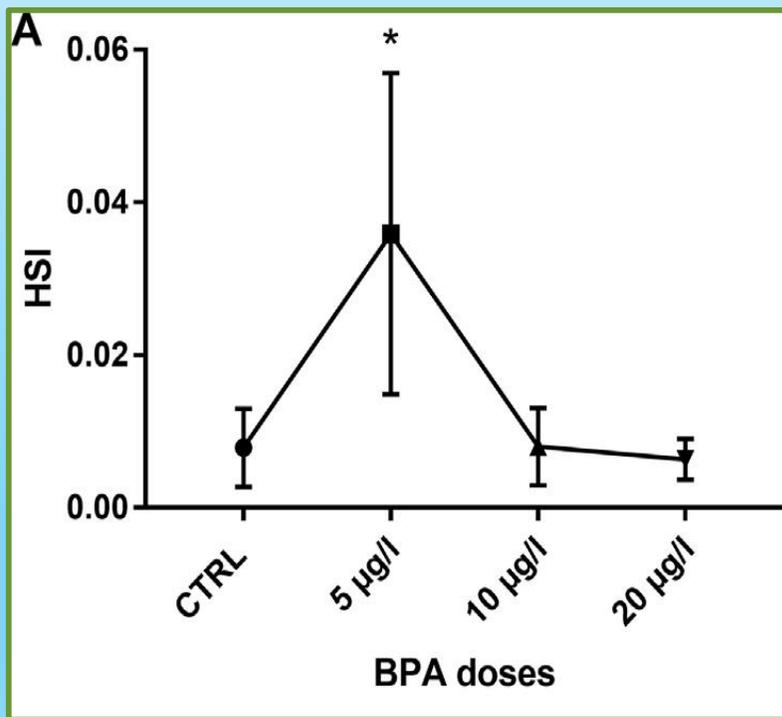
Obiettivo dello studio

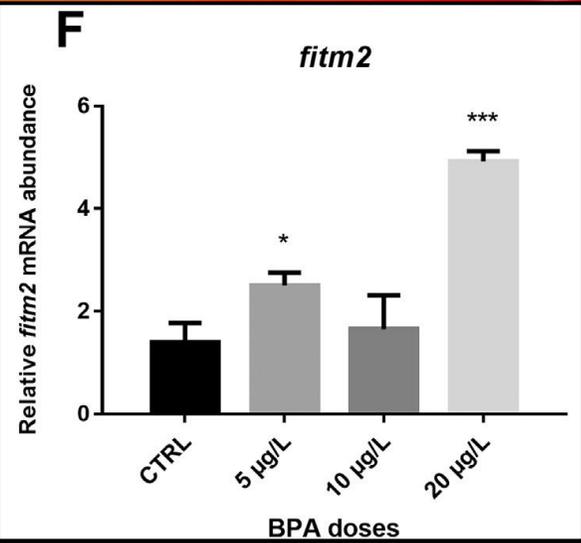
Nel presente studio il cui scopo è indagare gli effetti di **DGB** e **BPA** sul metabolismo lipidico del pesce zebra, questo è stato esposto a tre diverse dosi di BPA (5; 10; 20 $\mu\text{g/L}$) e cinque diverse dosi di DGB (0,01; 0,1; 1; 10; 100 $\mu\text{g/L}$) per un periodo di 21 giorni indagando i **livelli di trascrizione** per i geni coinvolti nel **metabolismo lipidico** e misurando il contenuto epatico di fosfati, lipidi e proteine



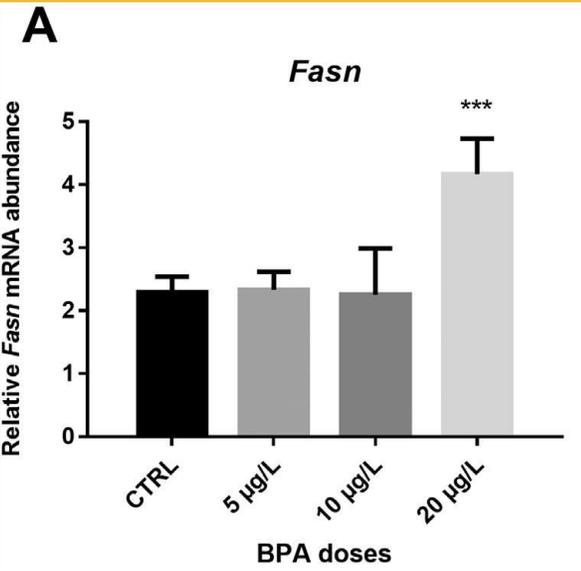
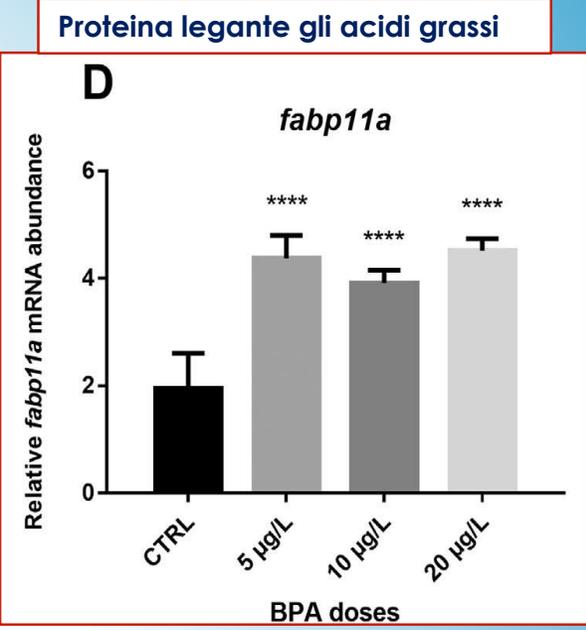
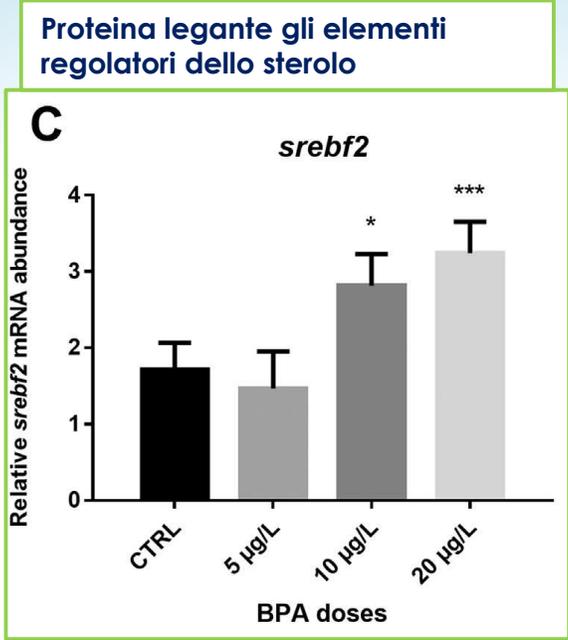
Risultati

L'esposizione al **BPA** ha aumentato significativamente l'**indice epatosomatico (HSI)** alla concentrazione più bassa testata (**5 $\mu\text{g} / \text{L}$**). Concentrazioni più elevate non hanno avuto effetto. L'**HSI** è aumentato solo in seguito all'esposizione con **DGB** a **0.1 $\mu\text{g} / \text{L}$**

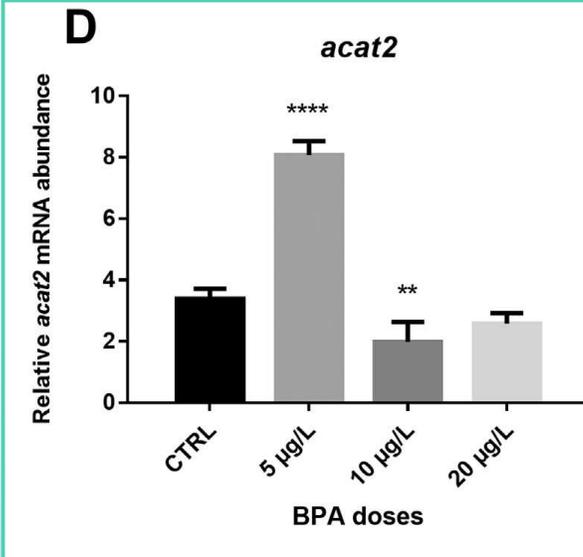




Proteina transmembrana che induce l'accumulo dei lipidi



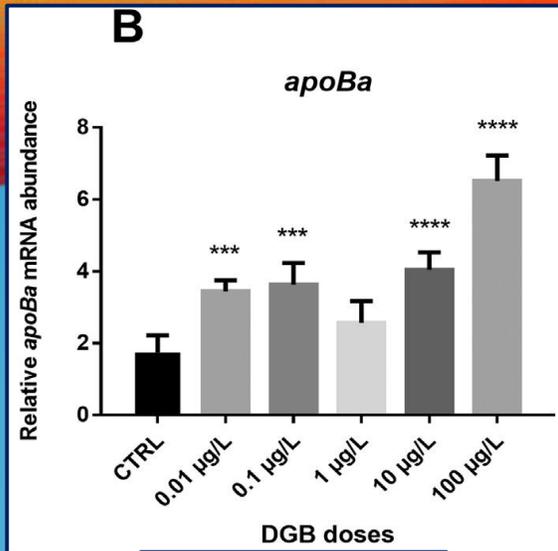
Acido grasso sintasi



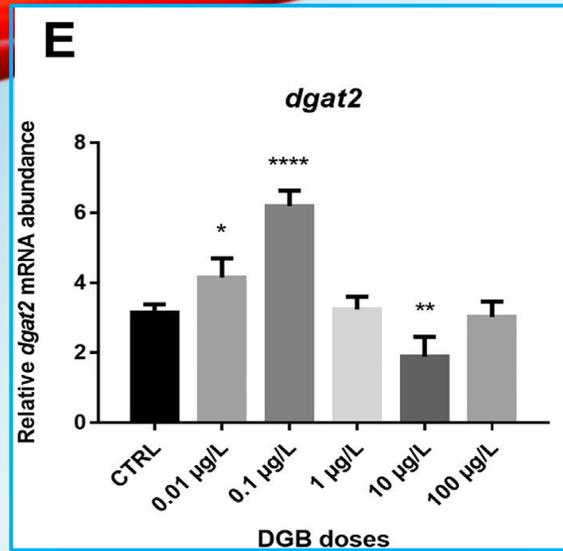
Acil-coenzima A colesterolo aciltransferasi

A 5 µg/L, è stato riscontrato che il **BPA** aumenta la **produzione** e l'**immagazzinamento** dei lipidi, come indicato dai livelli più elevati di **srebf2**, **fitm2** **fabp11a** che contribuiscono all'aumento dell'indice epatosomatico.

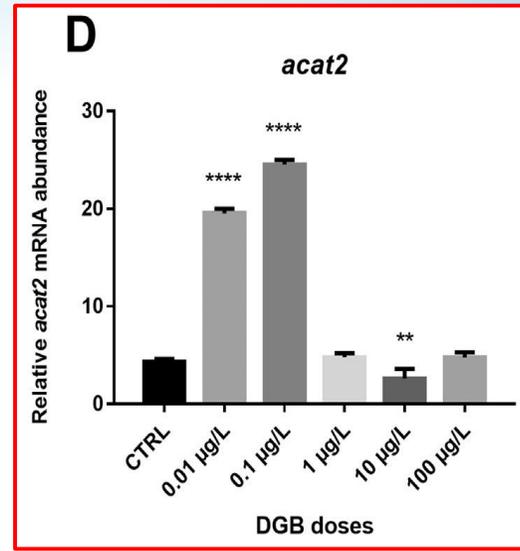
Il BPA attiva la via di sintesi degli acidi grassi, portando alla produzione di esteri del colesterolo (il livello di mRNA di **acat2** aumenta) e la conversione in goccioline lipidiche mediante una maggiore espressione di **fitm2**.



Apolipoproteina Ba



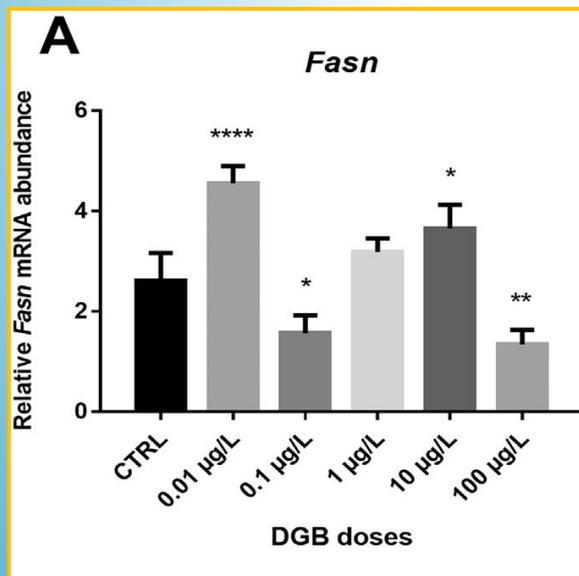
Digliceride acetiltransferasi



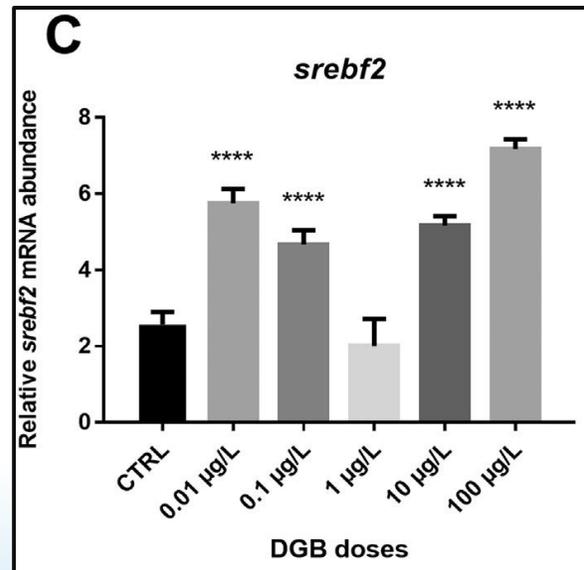
Acil-coenzima A colesterolo aciltransferasi

I risultati su **DGB** hanno rivelato effetti avversi sul **metabolismo lipidico**.

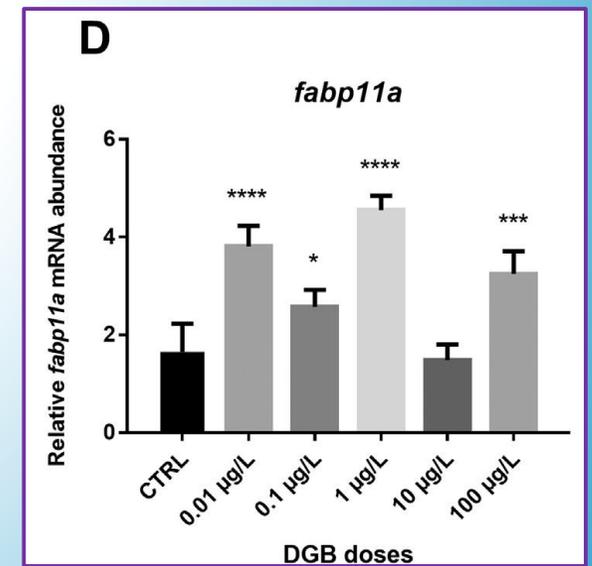
A concentrazioni inferiori (0,01 µg/L e 0,1 µg/L), l'esposizione a DGB aumenta la **lipogenesi**, la formazione di esteri del colesterolo (aumento della trascrizione di **fasn**, **sreb2** e **acat2**) e la produzione di trigliceridi (**dgat2**).



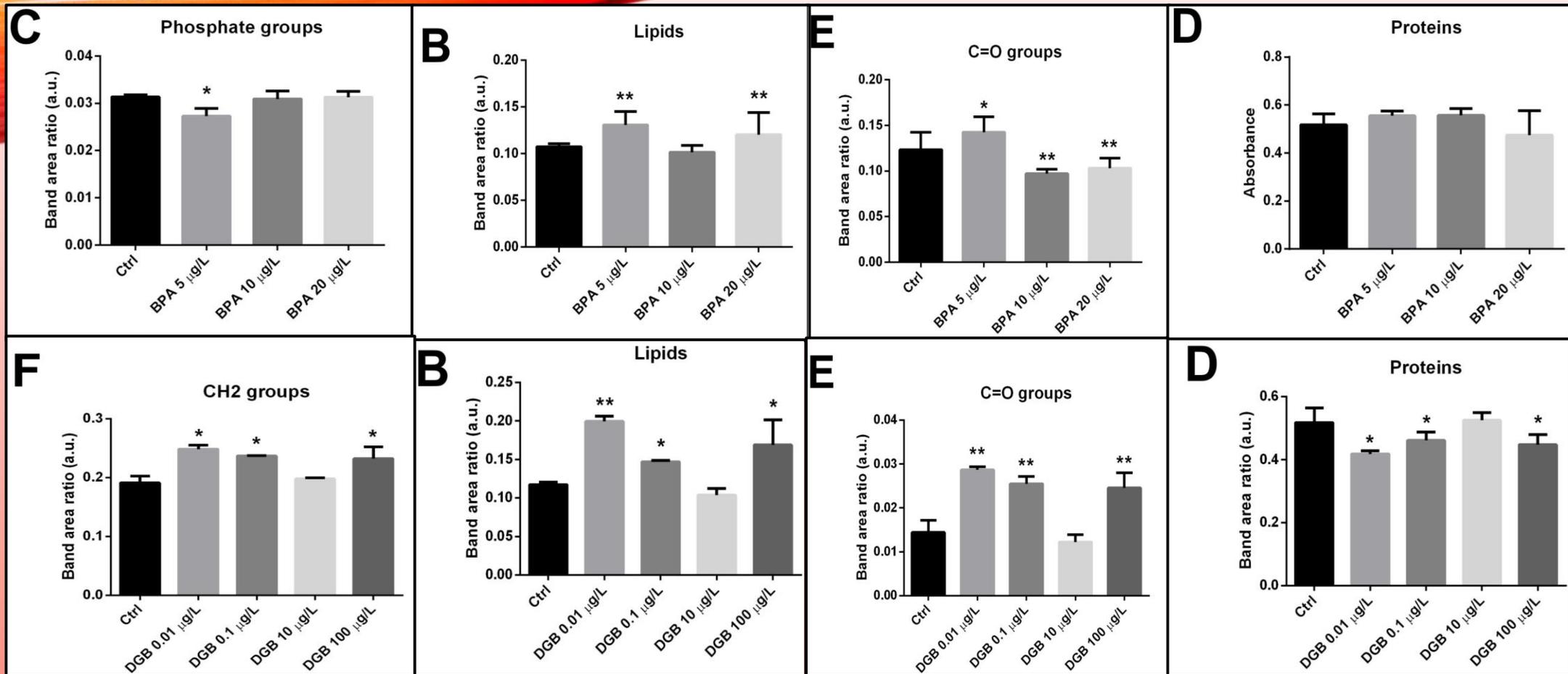
Acido grasso sintasi



Proteina legante gli elementi regolatori dello sterolo



Proteina legante gli acidi grassi



La **spettroscopia infrarossa** è stata utilizzata per chiarire gli effetti di questi contaminanti sulla composizione chimica del fegato. Questa tecnica dimostra come l'esposizione (al BPA e al DGB) è in grado di alterare la composizione biochimica del fegato in risposta a cambiamenti nel metabolismo lipidico

Conclusioni

Nel presente studio, possiamo concludere che sia il **BPA** che il **DGB** sono fattori che contribuiscono a promuovere l'**obesità**.

Le concentrazioni ambientali di BPA possono aumentare l'immagazzinamento di **triacilglicerolo** (TAG) nelle goccioline lipidiche nel fegato e la **sintesi degli acidi grassi**.

Sulla base dei risultati, ipotizziamo che il **DGB** aumenti la produzione di lipidi, degli esteri del colesterolo, degli acidi grassi e dei TAG, promuovendo il trasporto diffuso dei lipidi in eccesso verso tutti i compartimenti dell'organismo tramite la circolazione.



BIBLIOGRAFIA

- Effects of diethylene glycol dibenzoate and Bisphenol A on the lipid metabolism of Danio rerio: Stefania Santangeli, Valentina Notarstefano, Francesca Maradonna, Elisabetta Giorgini, Giorgia Gioacchini, Isabel Forner-Piquer, Hamid R. Habibi, Oliana Carnevali
- <https://www.auxologico.it/malattia/obesita>
- <https://www.iss.it/inte-interferenti-endocrini>
- <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/b/bisfenolo-a#rischi-per-la-salute>
- <https://www.auxologico.it/approfondimenti/interferenti-endocrini>

RIASSUNTO ESTESO

Un **Interferente Endocrino (EDC)** è una **sostanza esogena**, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo o della sua progenie. Le sostanze che agiscono da IE non hanno soltanto effetti sul sistema endocrino ma inducono anche l'obesità. Queste sostanze chimiche (**obesogeni**) inducono l'aumento del peso agendo sulle cellule adipose alterando la regolazione dell'appetito e il senso di sazietà e/o modificando il tasso metabolico favorendo l'immagazzinamento calorico.

L'**obesità** è una condizione caratterizzata da un **eccessivo peso corporeo** definita come l'espansione della massa e del tessuto adiposo attraverso l'ipertrofia e l'iperplasia degli adipociti, **multifattoriale** dovuta a fattori **genetici, metabolici, ambientali e comportamentali**.

Il **Bisfenolo A (BPA)** è prodotto sin dagli anni '60 dello scorso secolo ed è una sostanza chimica molto utilizzata nella produzione delle **plastiche in policarbonato** (molto diffuse per le proprietà di **trasparenza, resistenza termica e meccanica**), utilizzate nei recipienti per **uso alimentare**, e nelle resine epossidiche che compongono il rivestimento protettivo interno presente nella maggior parte delle lattine per alimenti e bevande. Il **dietilenglicole dibenzoato (DGB)**, un'alternativa approvata agli ftalati nella produzione di prodotti in plastica e lattice è invece meno abbondante e i suoi effetti sono quasi del tutto sconosciuti.

Nel presente studio il cui scopo è indagare gli effetti di **DGB e BPA** sul metabolismo lipidico del pesce zebra, questo è stato esposto a tre diverse dosi di BPA (5; 10; 20 µg/L) e cinque diverse dosi di DGB (0,01; 0,1; 1; 10; 100 µg/L) per un periodo di 21 giorni indagando i **livelli di trascrizione** per i geni coinvolti nel **metabolismo lipidico** e misurando il contenuto epatico di fosfati, lipidi e proteine. Un potenziale target per questi composti sarebbe l'interruzione della regolazione trascrizionale di geni coinvolti nel metabolismo degli acidi grassi alterando a lungo termine i meccanismi regolatori che controllano l'omeostasi lipidica.

L'esposizione al BPA ha aumentato significativamente l'**indice epatosomatico** (peso del fegato/peso dell'intero corpo) alla concentrazione più bassa testata (5 µg / L). Concentrazioni più elevate non hanno avuto conseguenza. Questo sottende un effetto non monotono dove all'aumentare della dose non è detto che ci sia un esito riscontrabile. L'HSI è aumentato solo in seguito all'esposizione con DGB a 0,1 µg / L. Analizzando più nel dettaglio i fattori di trascrizione e quali geni venivano espressi, è stato riscontrato che il BPA a 5 µg/L aumenta la **produzione e l'immagazzinamento dei lipidi**, come indicato dai livelli più elevati di alcuni **fattori della trascrizione** come **sreb2 (proteina che lega gli elementi regolatori dello sterolo) che regola i geni legati alla biosintesi dei lipidi e del colesterolo e di fitm2**, gene che codifica per la **proteina transmembrana che induce l'accumulo dei lipidi**, infatti dopo la loro sintesi, i triacilgliceroli (**TAG**) possono essere conservati in **goccioline lipidiche** grazie all'azione di **fitm2 e fabp11a** una **proteina che lega gli acidi grassi** contribuendo all'aumento dell'indice epatosomatico.

Il BPA attiva la via di sintesi degli acidi grassi, portando alla produzione di esteri del colesterolo (il livello di mRNA di **acat2** aumenta). **A 20 µg/L aumenta la trascrizione del gene fasn (acido grasso sintasi)**, che codifica per un enzima che **catalizza la biosintesi degli acidi grassi saturi** da semplici precursori innescando la lipogenesi. I risultati su DGB hanno anche rivelato effetti avversi significativi sul metabolismo lipidico. A concentrazioni inferiori (0,01 µg/L e 0,1 µg/L), l'esposizione a DGB aumenta la lipogenesi, la formazione degli esteri del colesterolo (aumento della regolazione di **fasn, sreb2 e acat2, acil-coenzima A colesterolo aciltransferasi, coinvolto nella conversione del colesterolo in esteri del colesterolo**), la produzione dei trigliceridi aumentando la trascrizione di **dgat2 (digliceride acetiltransferasi) che catalizza la formazione di trigliceridi** a partire dal **diacilglicerolo e Acil-CoA**.

L'esposizione a concentrazioni inferiori di DGB aumentano i livelli di mRNA delle **apolipoproteine (apoBa)** coinvolte nella **produzione delle lipoproteine a bassissima densità e chilomicroni**.

La **spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier** è stata utilizzata per chiarire gli effetti di questi contaminanti sulla composizione chimica del fegato.

Quindi questo approccio mostra come l'esposizione (sia al BPA che al DGB) altera la composizione biochimica del fegato, infatti si è visto che per il **BPA i gruppi carbonilici C=O** sono aumentati alla concentrazione più bassa testata (5 µg/L) e diminuiti in seguito all'esposizione a concentrazioni più elevate (10 µg/L e 20 µg/L), mentre **non sono stati rilevati effetti significativi sulla composizione delle proteine**. L'esposizione alla più bassa concentrazione di **BPA (5 µg/L)** ha determinato anche una **diminuzione dei gruppi fosfato** rispetto al controllo. L'esposizione alle diverse concentrazioni di **DGB ha aumentato il contenuto lipidico totale nei campioni di fegato**, ad eccezione della concentrazione di 10 µg/L, inoltre ha anche indotto l'aumento della **quantità dei gruppi -CH₂**, che indicano un **aumento della lunghezza delle catene alifatiche degli acidi grassi**. Le alterazioni di queste biomolecole/gruppi chimici possono essere **associate all'insorgenza di meccanismi apoptotici**, mostrando due principali caratteristiche delle cellule apoptotiche che consistono nell'**aumento del contenuto lipidico e dei gruppi C=O e la diminuzione dei gruppi fosfato** che compongono il **gruppo fosfodiesteri degli acidi nucleici**, condizione che potrebbe essere dovuta ad una frammentazione del DNA indotta dall'apoptosi. A differenza del BPA, l'esposizione al **DGB ha causato una profonda alterazione della composizione proteica**, mentre i **gruppi fosfato non sono stati colpiti**.

Dallo studio effettuato si evince che sia il BPA che il DGB sono fattori che contribuiscono a promuovere l'obesità. Le concentrazioni ambientali di BPA possono aumentare l'immagazzinamento di triacilglicerolo (TAG) nelle goccioline lipidiche nel fegato ed indurre la sintesi degli acidi grassi.

L'esposizione al DGB aumenta il livello di mRNA delle lipoproteine e la produzione di lipidi con una curva dose effetto non monotona, ma non sembra causare steatosi epatica. Inoltre sulla base dei risultati, è possibile ipotizzare che il DGB aumenti la produzione degli esteri del colesterolo, degli acidi grassi e TAG, promuovendo il trasporto diffuso dei lipidi in eccesso verso tutti i compartimenti dell'organismo tramite la circolazione.

Data l'elevata sintonia tra zebrafish e genoma umano, i risultati possono contribuire a sviluppare nuove strategie per la prevenzione o l'eventuale rallentamento dell'epidemia di obesità causata come dimostra lo studio anche dall'aumento di esposizione ai contaminanti ambientali.