



SESSIONE AUTUNNALE
ANNO ACCADEMICO 2022/2023

**POLICLOROBIFENILE 77 E SVILUPPO DI
DISTRUBI METABOLICI**

**POLYCHLORINATED BIPHENYL 77 AND
DEVELOPMENT OF METABOLIC DISORDERS**

TESI DI LAUREA DI:
LINDA ANTONELLI

RELATORE:
OLIANA CARNEVALI



Interferenti endocrini

Che cosa sono?

Sostanze esogene che interferiscono con il normale sistema endocrino

Dove si trovano?

- Alimenti
- Contenitori per alimenti
- Cosmetici
- Materiali plastici
- Prodotti per la cura della casa
- Pesticidi

Come interferiscono?

- Interagiscono con i recettori
- Alterano la via di segnalazione ormonale
- Alterano l'espressione e il turnover dei recettori
- Alterano la sintesi degli ormoni
- Interferiscono nel trasporto degli ormoni nel sangue

Obesità

Oggi considerata una **pandemia globale**, causa della comparsa di gravi disturbi associati, come: *il diabete di tipo 2, l'aterosclerosi e fattori di rischio che definiscono la sindrome metabolica.*

Da cosa è causata?

- Dieta ipercalorica → Squilibrio metabolico

- **Obesogeni**

Che cosa sono?

Sono **interferenti endocrini** che alterano i processi metabolici dell'individuo esposto e della sua progenie.

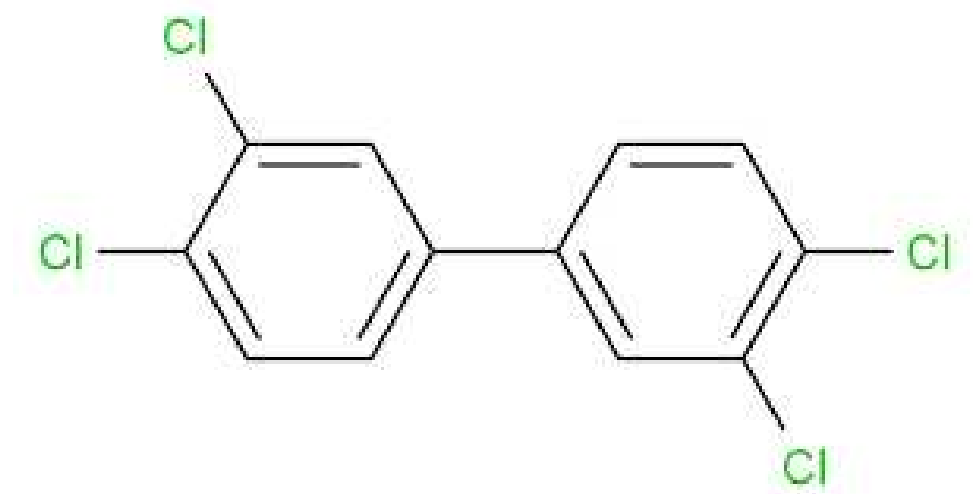
Principali effetti degli obesogeni

- aumento del peso corporeo
- ipertrofia degli adipociti
- obesità
- aterosclerosi
- diabete tipo 2
- infiammazione del tessuto adiposo

Policlorobifenili

Cosa sono?

- Sono **obesogeni**
- Contaminanti ambientali **ubiquitari**
- Utilizzati come impermeabilizzanti, fluidi dielettrici, plastificanti
- Altamente tossici



PCB-77

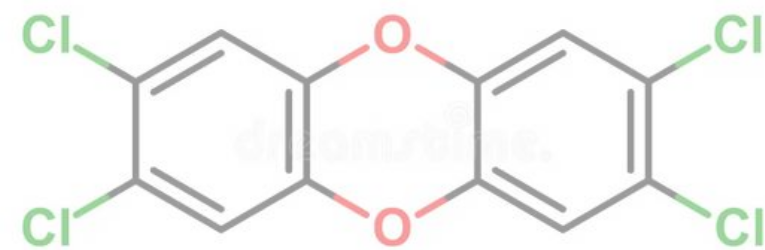
ELEVATO COEFFICIENTE DI
RIPARTIZIONE OTTANOLO/ACQUA



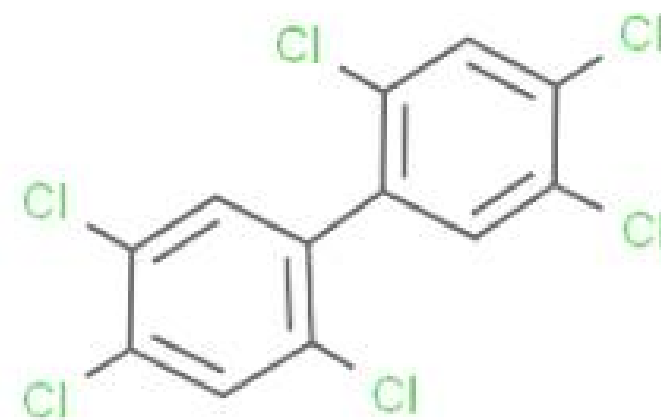
LIPOFILI



SONO FACILMENTE ACCUMULATI NEL
TESSUTO ADIPOSO



TCDD



PCB-153

Obiettivi

In vitro:

- Dimostrare gli effetti che il PCB-77 ha nel provocare il **differenziamento degli adipociti** e il rilascio di **adipochine pro-infiammatorie** e valutando le differenze con quelli indotti dal PCB-153
- Confrontare gli **effetti concentrazione-dipendenti** del PCB-77 e del TCDD

In vivo:

- Valutare l'**aumento del peso corporeo** dei topi C57BL/6, evidenziando le differenze che si osservano in **cavie WT** e **AhR -/-**, dopo l'esposizione al PCB-77
- Valutare anche gli effetti di PCB-77 su topi **ApoE -/-** ipercolesterolemici

Materiali e Metodi

Per gli studi *in vitro*

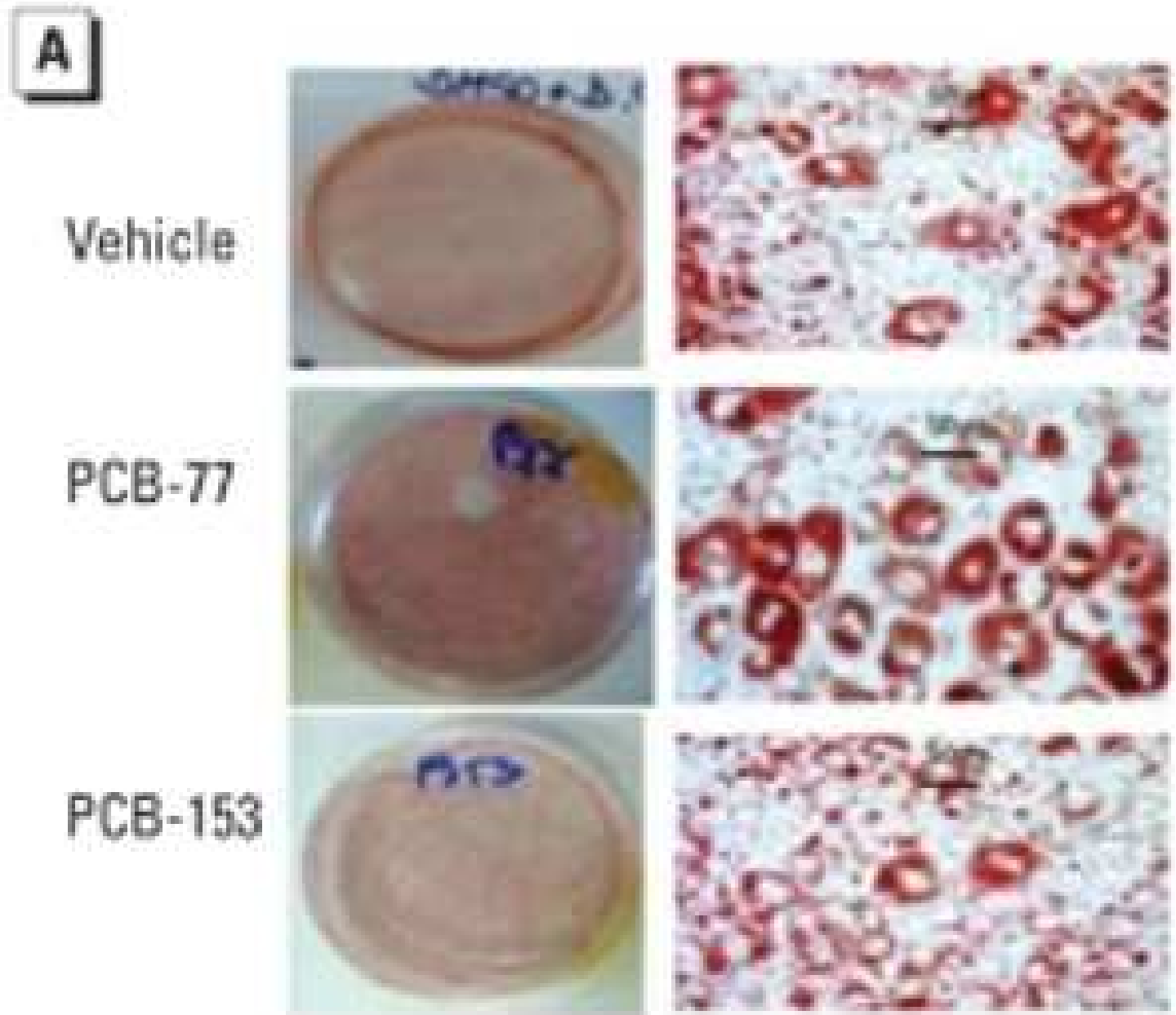
- **Cellule 3T3-L1**
- **Microscopia ottica:** colorazione olio rosso O
- **RT-PCR** per valutare il grado di espressione di adipochine pro-infiammatorie, e proteine coinvolte nell'adipogenesi

Per gli studi *in vivo*

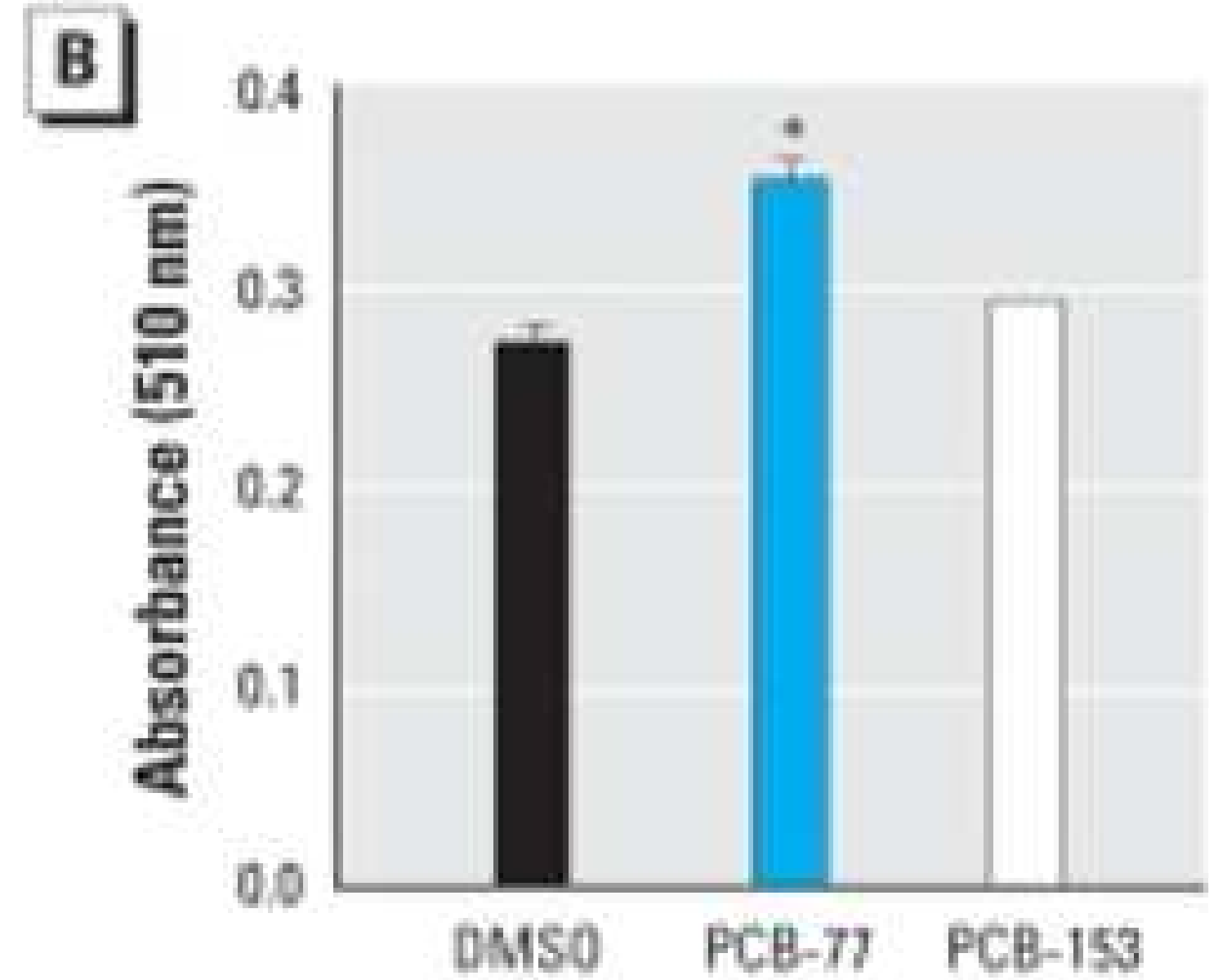
- Sono stati valutati in 6 settimane gli effetti dell'esposizione al PCB-77 su topi maschi **C57BL/6 WT, AhR -/- e ApoE -/-**
- **Misurazioni del peso corporeo** effettuate ogni settimana
- **Prelievo di sangue e tessuti** per ulteriori valutazioni: livelli di lipidi sierici e ipertrofia degli adipociti

Risultati

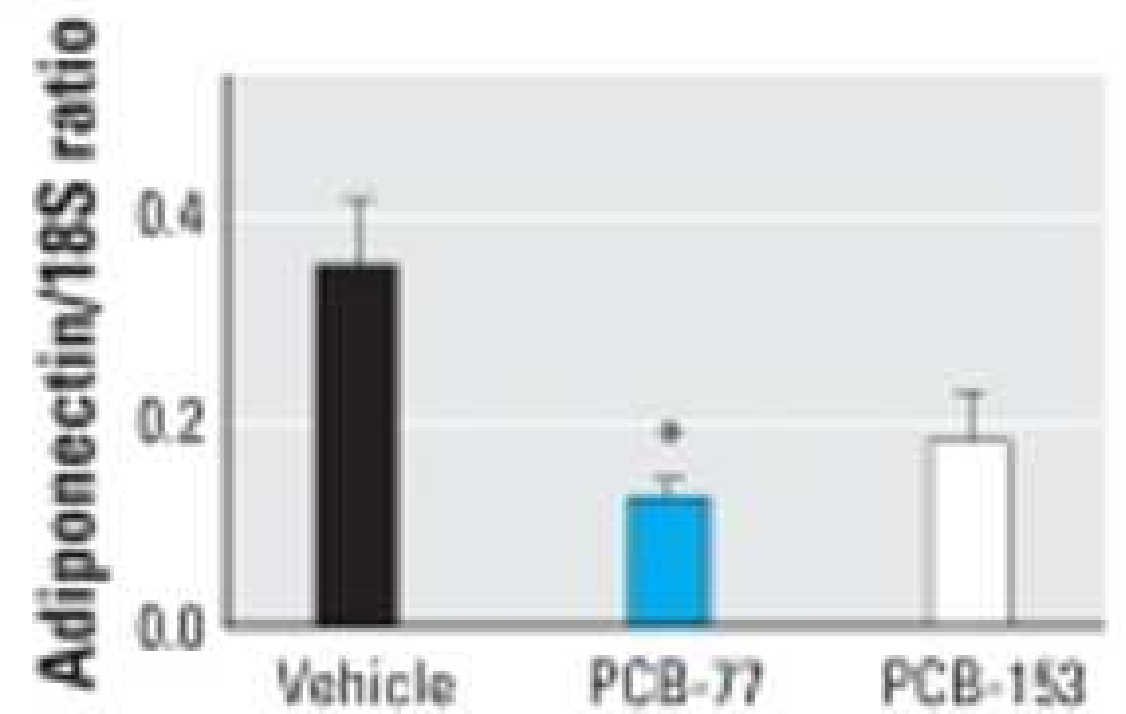
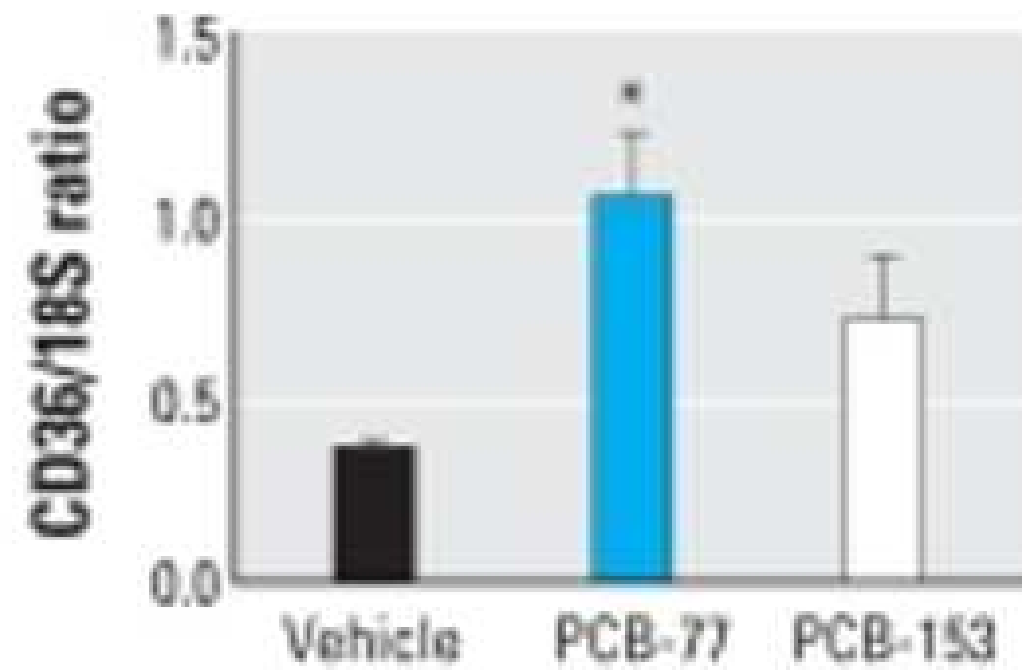
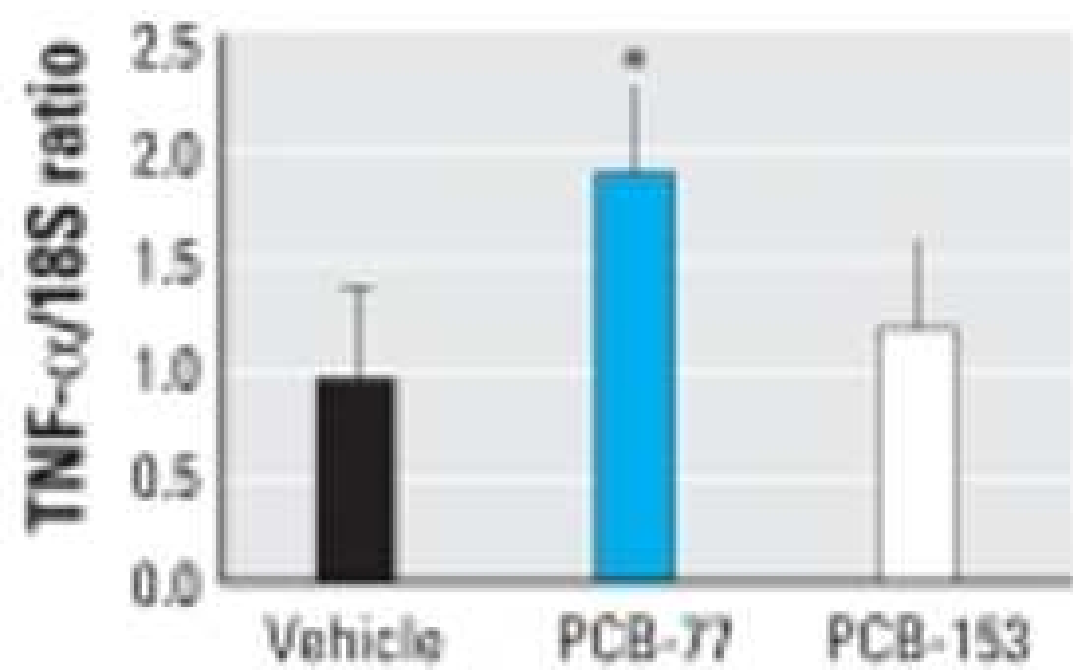
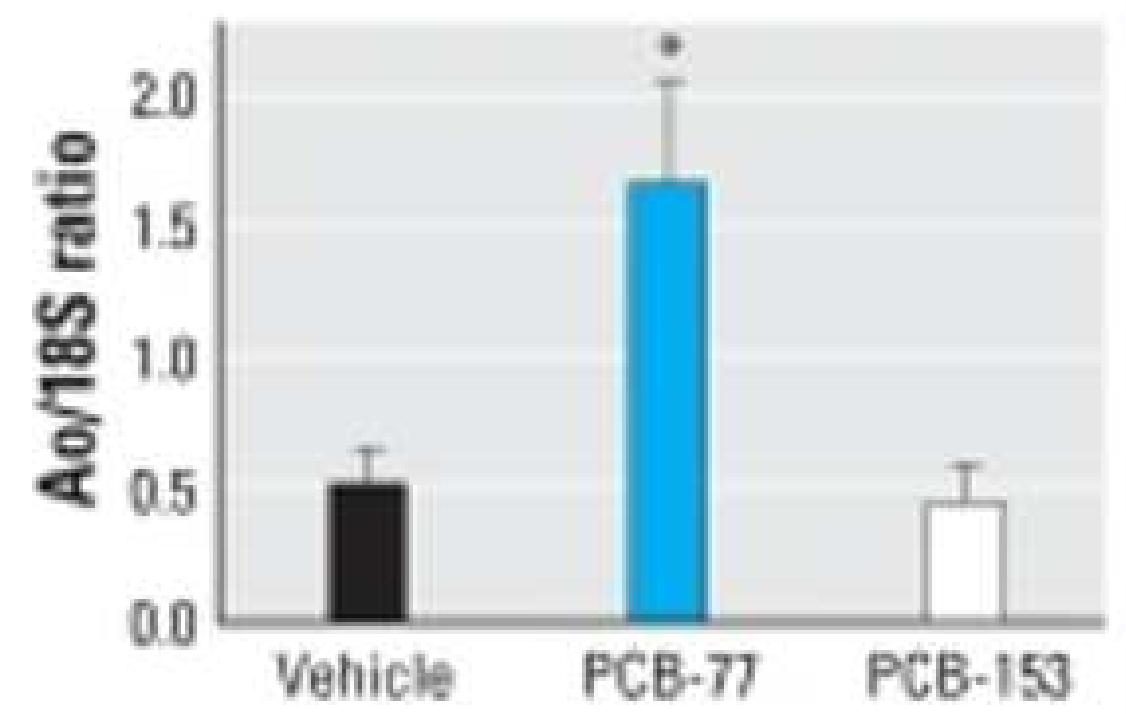
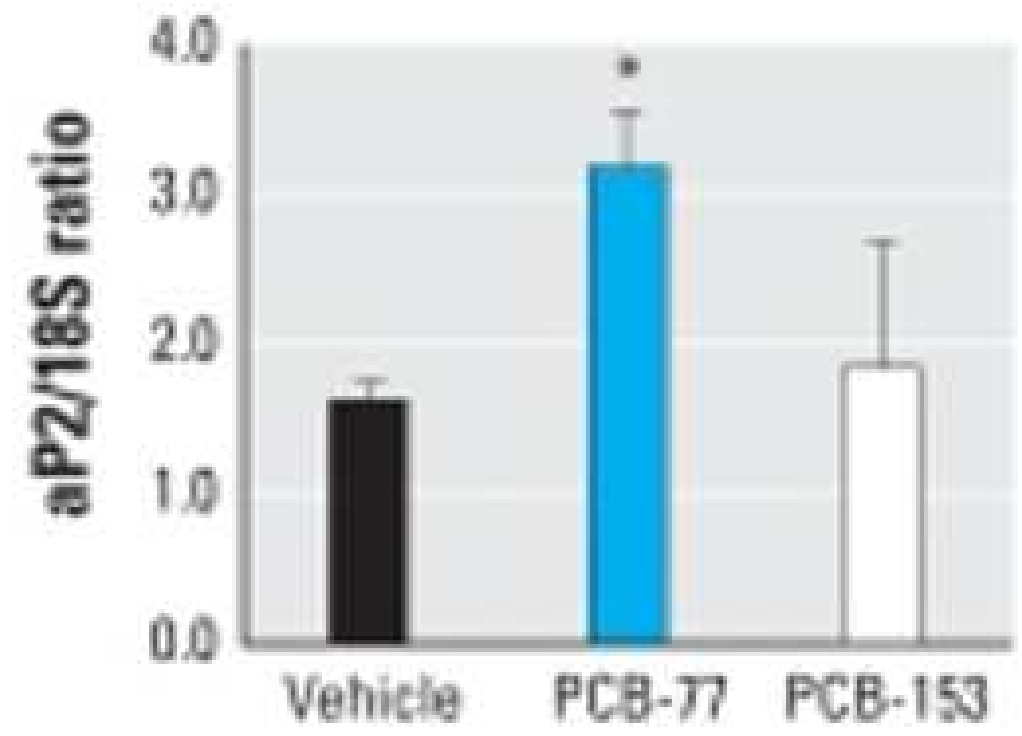
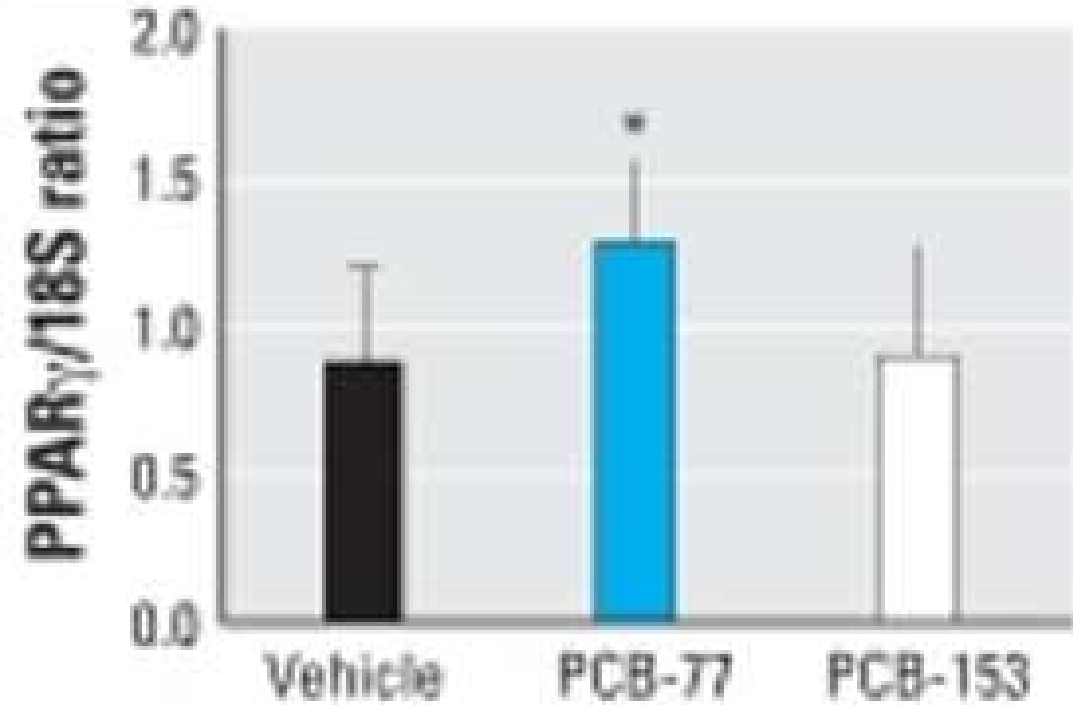
Effetti del PCB-77 e del PCB-153 su adipociti 3T3-L1 in coltura



Colorazione olio rosso O
di adipociti in coltura



Quantificazione della
colorazione olio rosso O

C

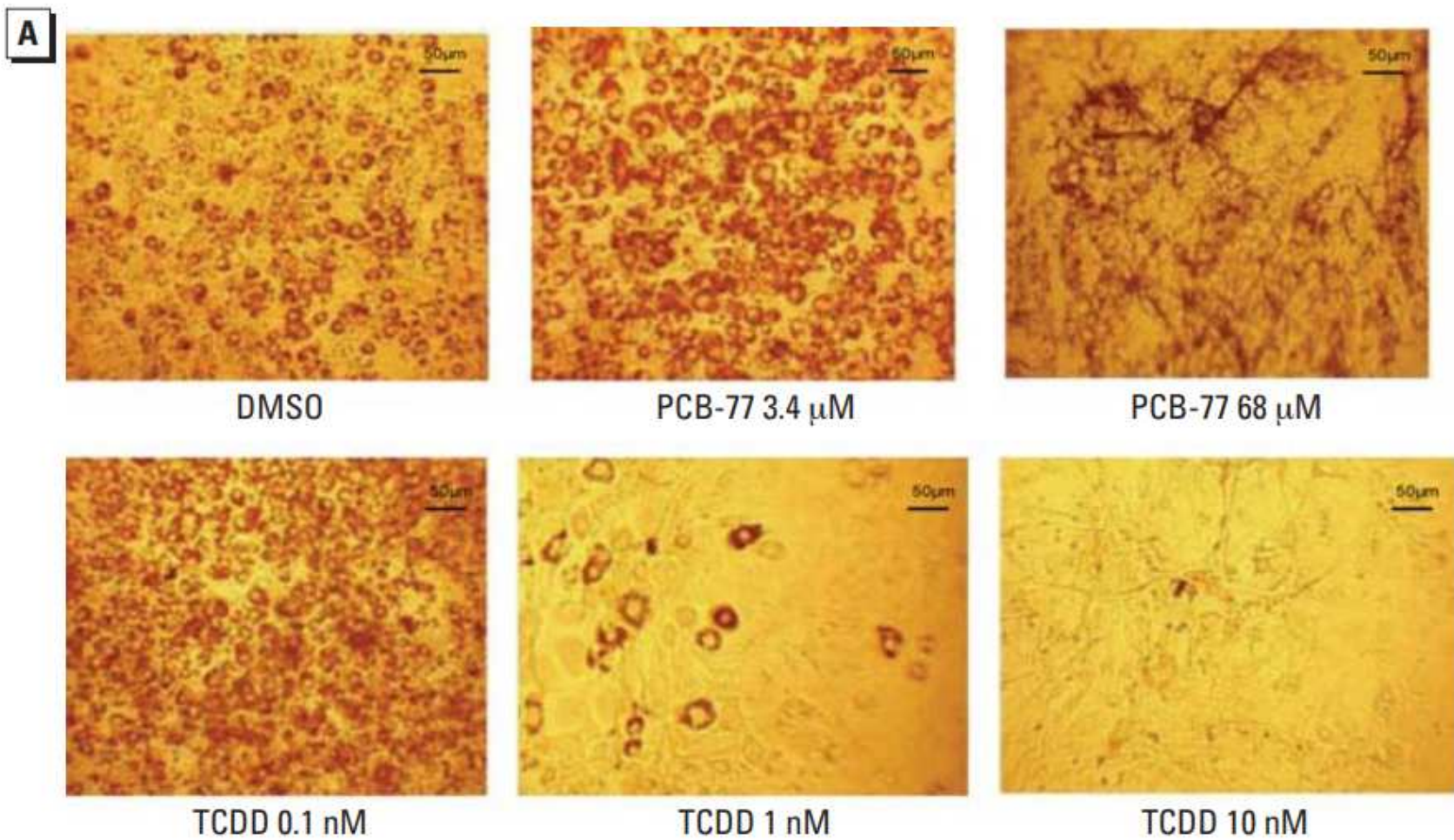
**Epressione genica m-RNA di PPAR γ ;
aP2; Ao; TNF- α ; CD36; adiponectina**

Effetti dell'esposizione a PCB-77 e TCDD (2,3,7,8-tetracloro-dibenzo-diossina) in cellule 3T3-L1

Table 2. Adipokines released from 3T3-L1 adipocytes incubated with vehicle or PCB-77.

	MCP-1 (pg/mL)	Adiponectin (pg/mL)	Leptin (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	KC-1 (pg/mL)
Vehicle	3,069 ± 297	43,200 ± 1,400	7.78 ± 2.3	5.6 ± 0.1	2,912 ± 321
PCB-77 (3.4 µM)	7,217 ± 1,238*	16,550 ± 250*	4.98 ± 1.7	8.6 ± 2.3	4,820 ± 794*
PCB-77 (68 µM)	1,510 ± 128	129 ± 80*	< 3.00	2.8 ± 0.1	< 3.00
TCDD (10 nM)	2,810 ± 430	1,106 ± 325*	< 3.00	3.8 ± 0.7	< 3.00

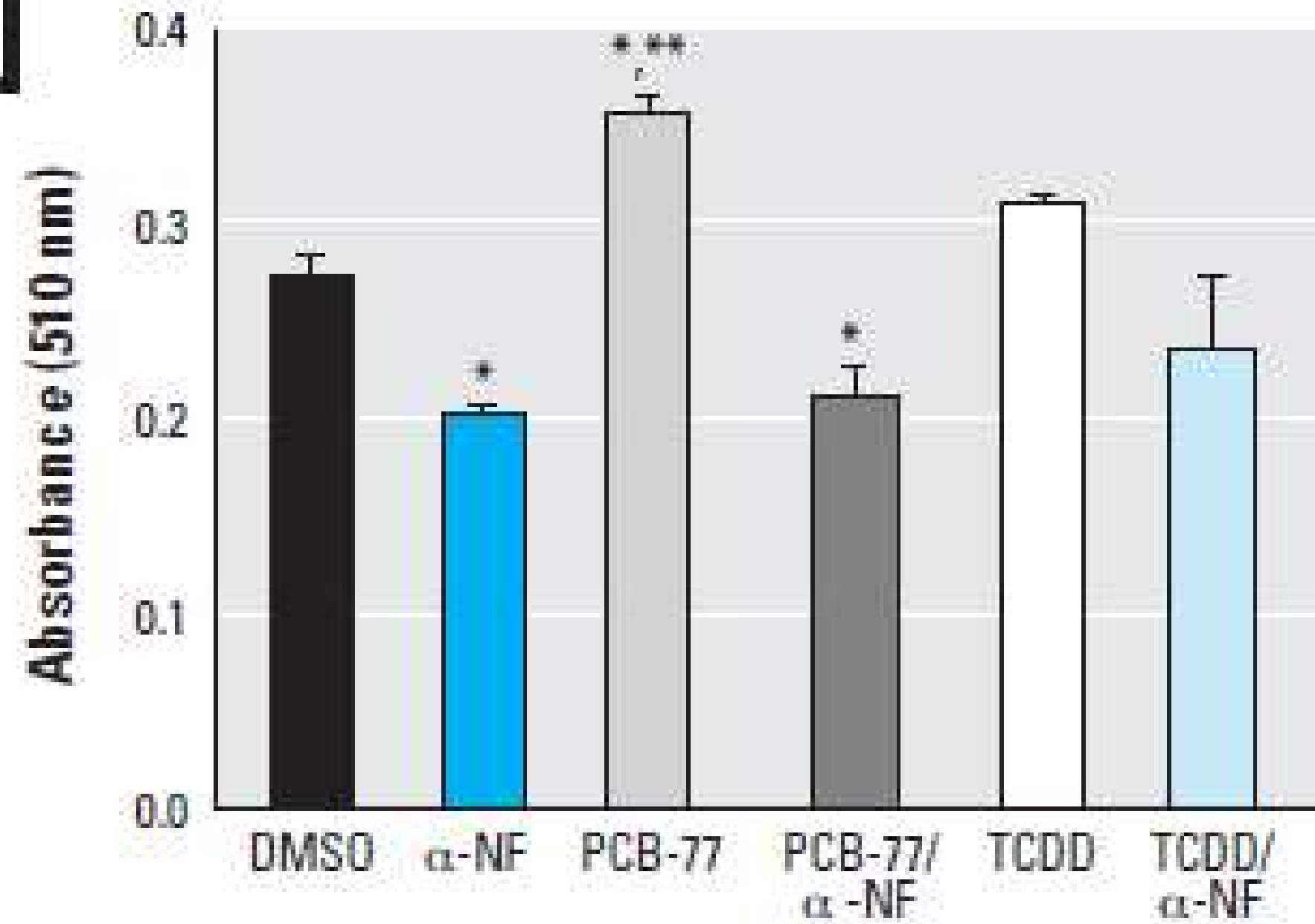
Espressione **adipochine pro-**
infiammatorie MCP-1; IL-6; KC-1



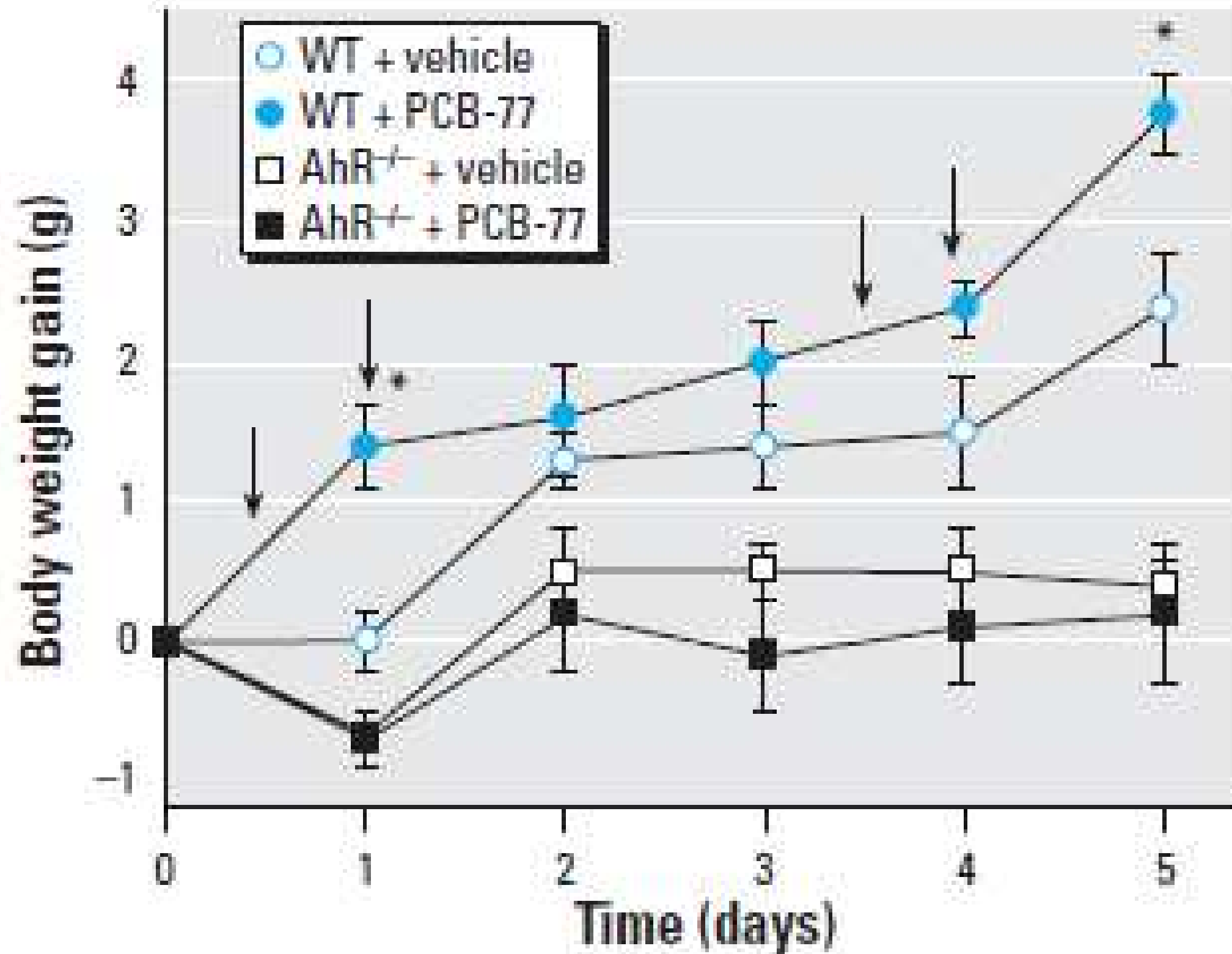
Effetto a **basse e alte dosi di PCB-77 e TCDD** sul differenziamento delle cellule 3T3-L1 - Colorazione olio rosso O



B

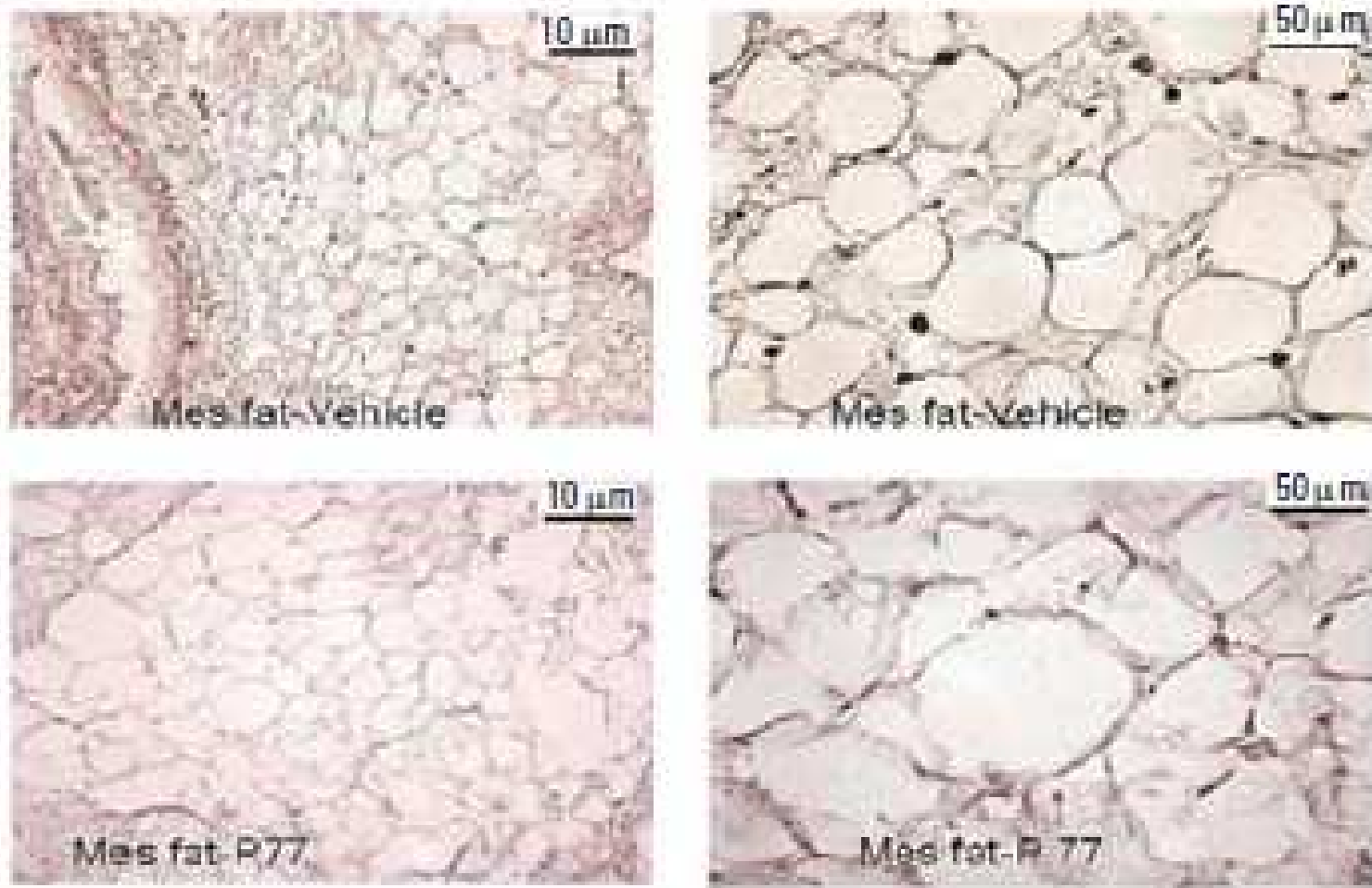


Effetti del PCB-77 mediati dal recettore AhR su peso corporeo, massa adiposa e peso del fegato



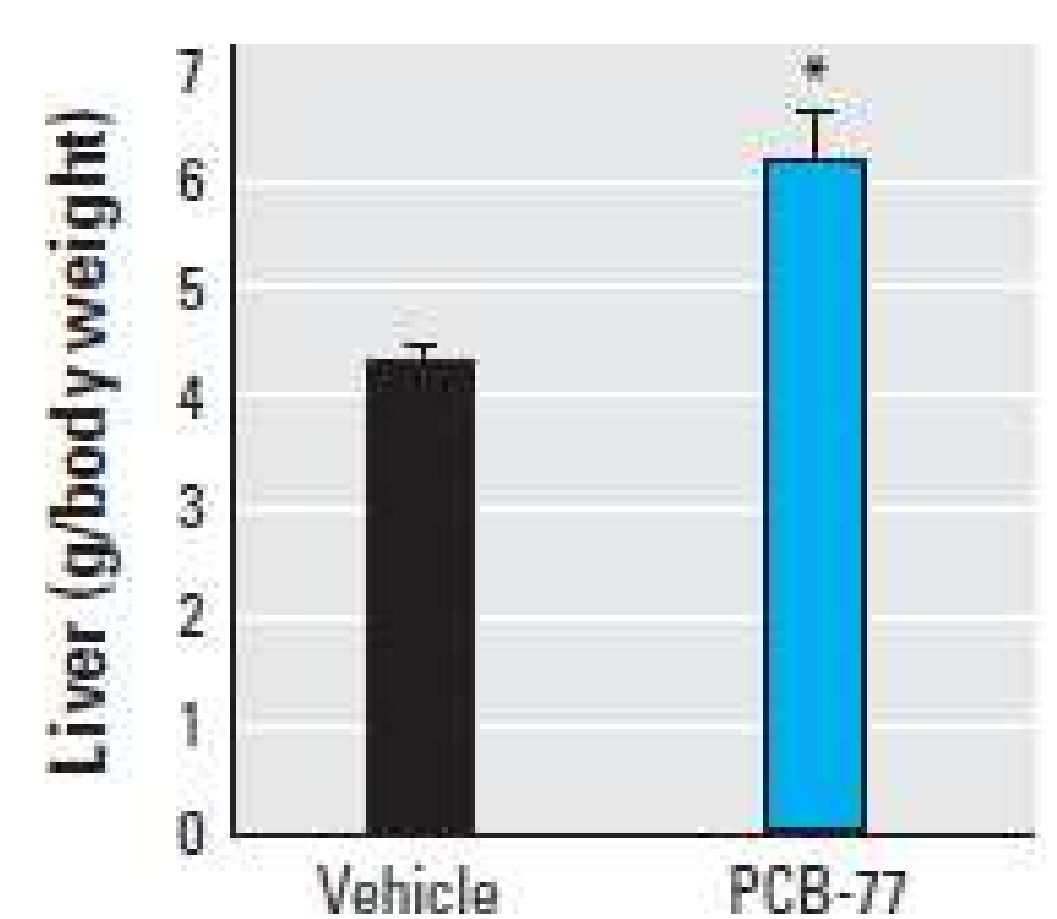
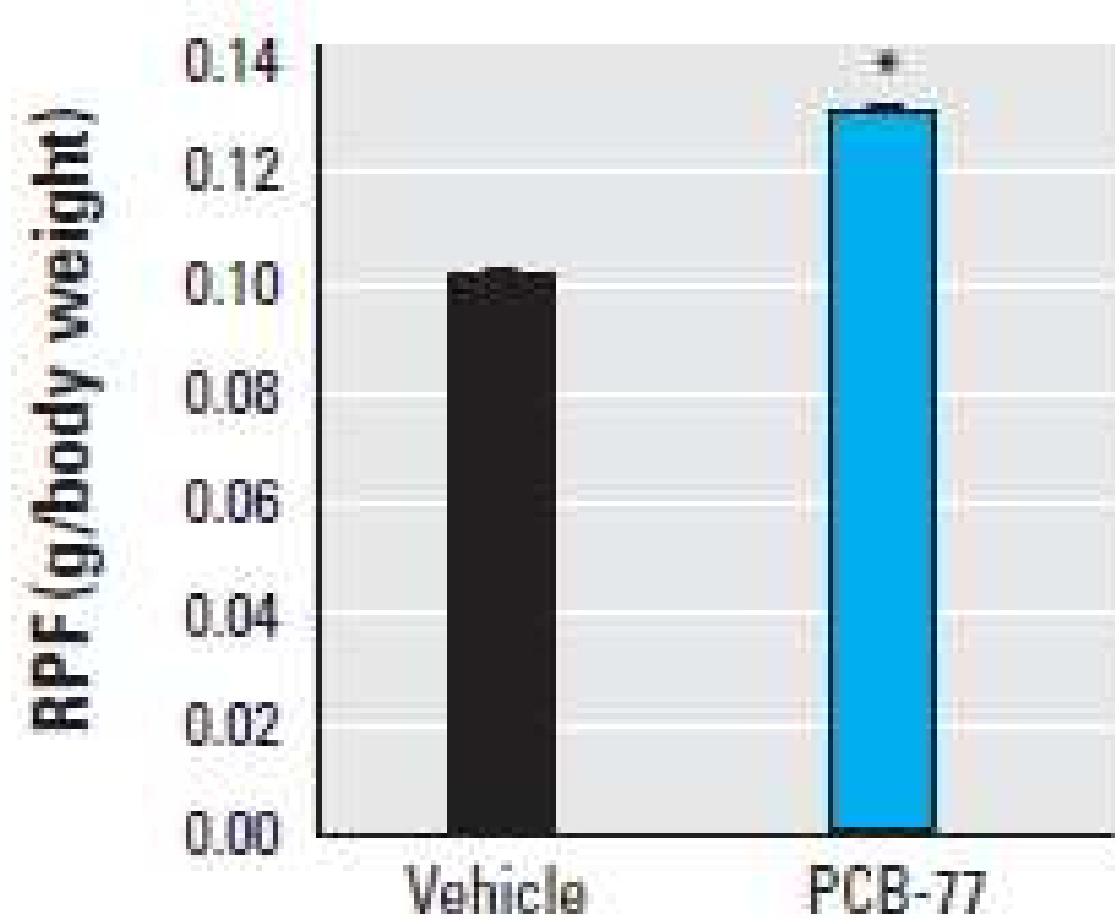
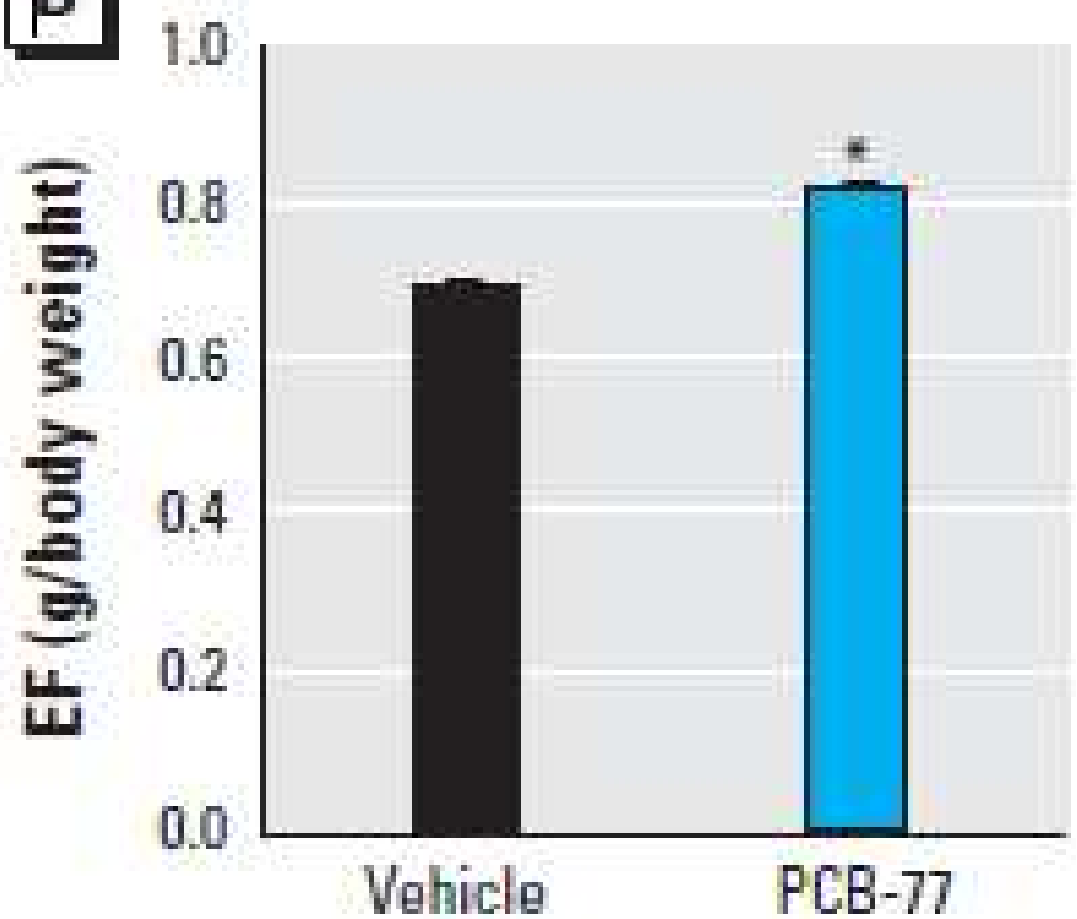
Effetti del veicolo e del PCB-77 in WT e in AhR^{-/-}

Le frecce indicano quando sono avvenute le iniezioni di veicolo e del PCB-77

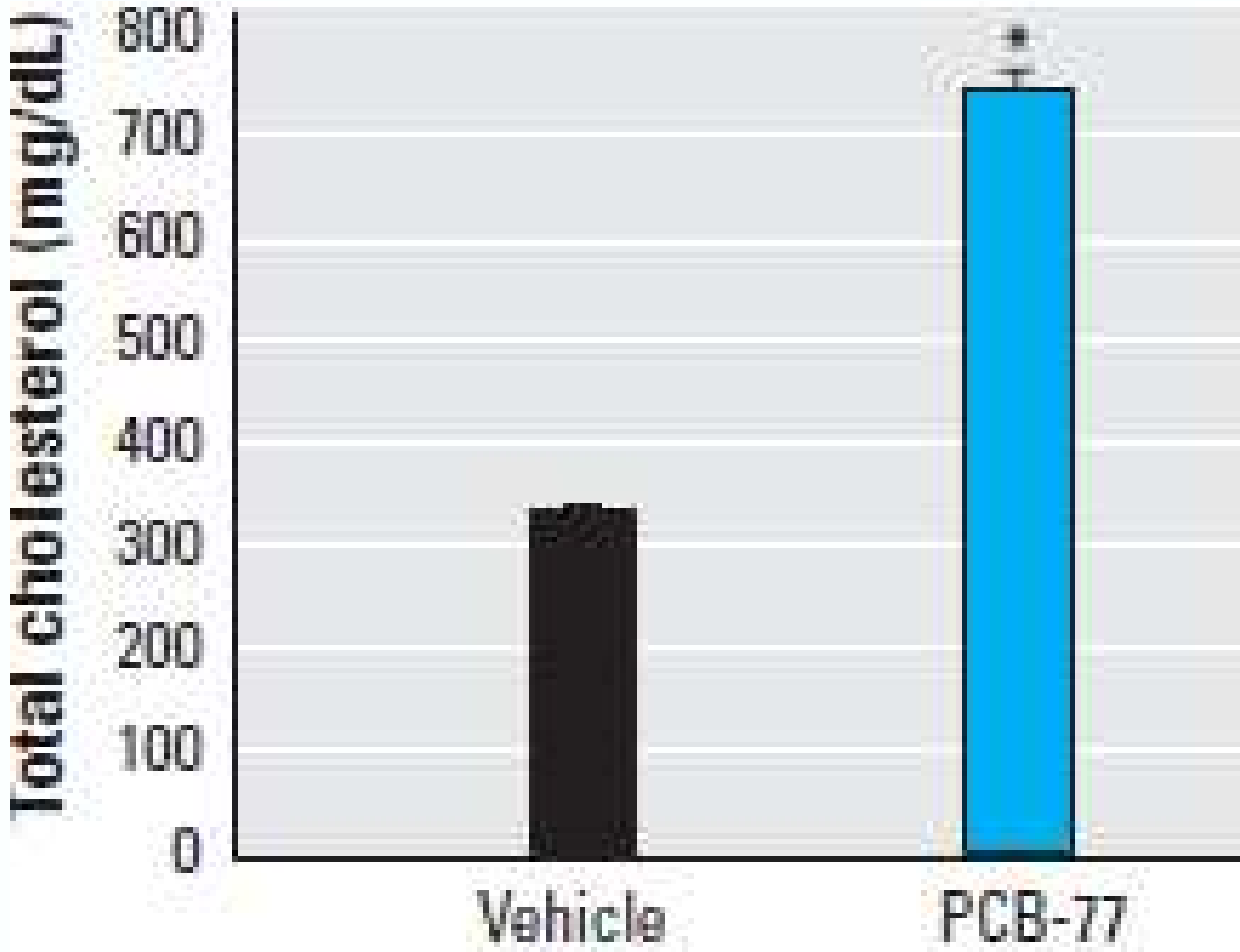
C

Sezioni di **tessuto adiposo mesenterico**, differenze tra veicolo e PCB-77

Misurazioni **tessuto adiposo bianco** associato alle gonadi, alla cavità retroperitoneale e al fegato

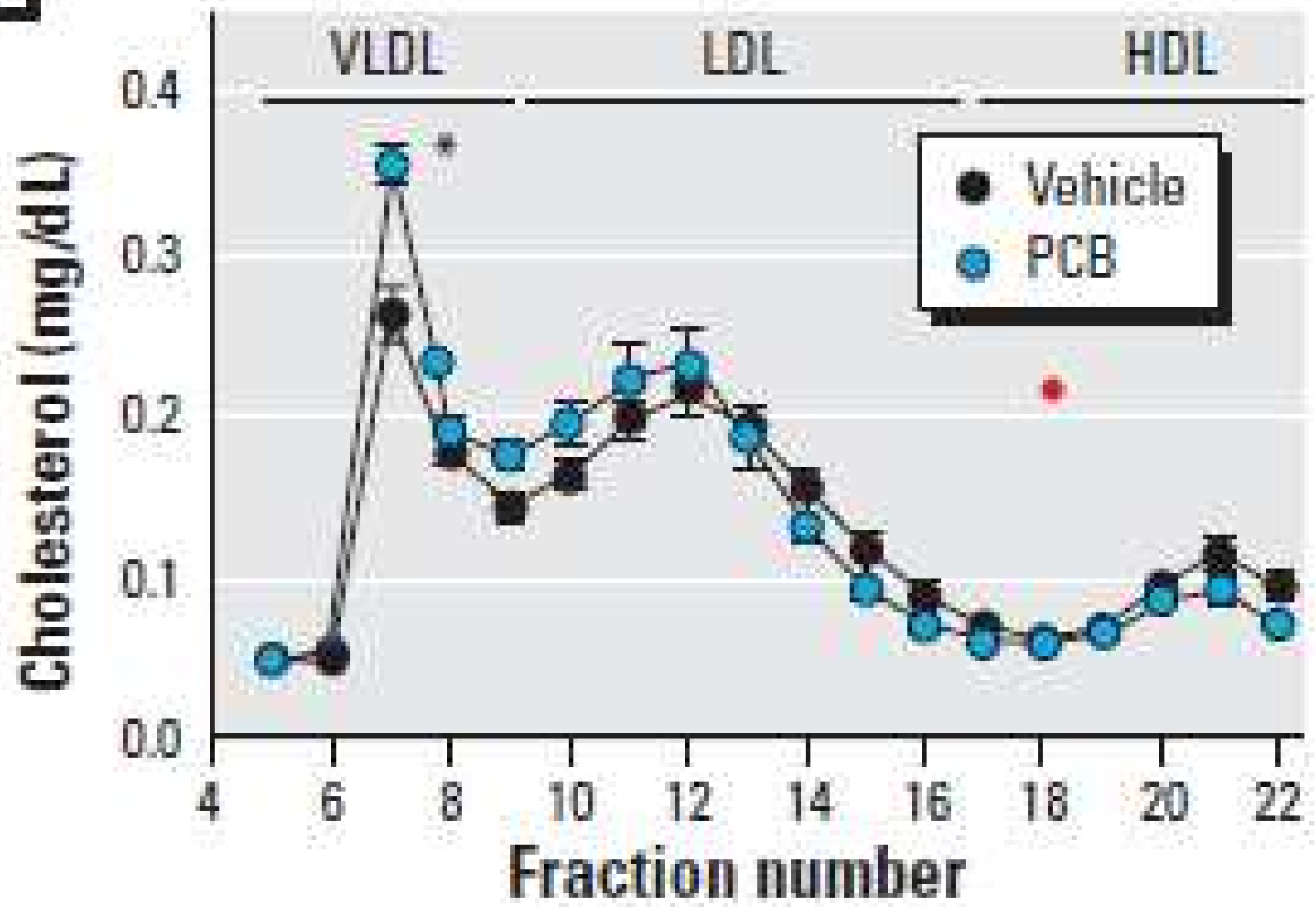
B

Effetti del PCB-77 nei topi ipercolesterolemici ApoE-/-



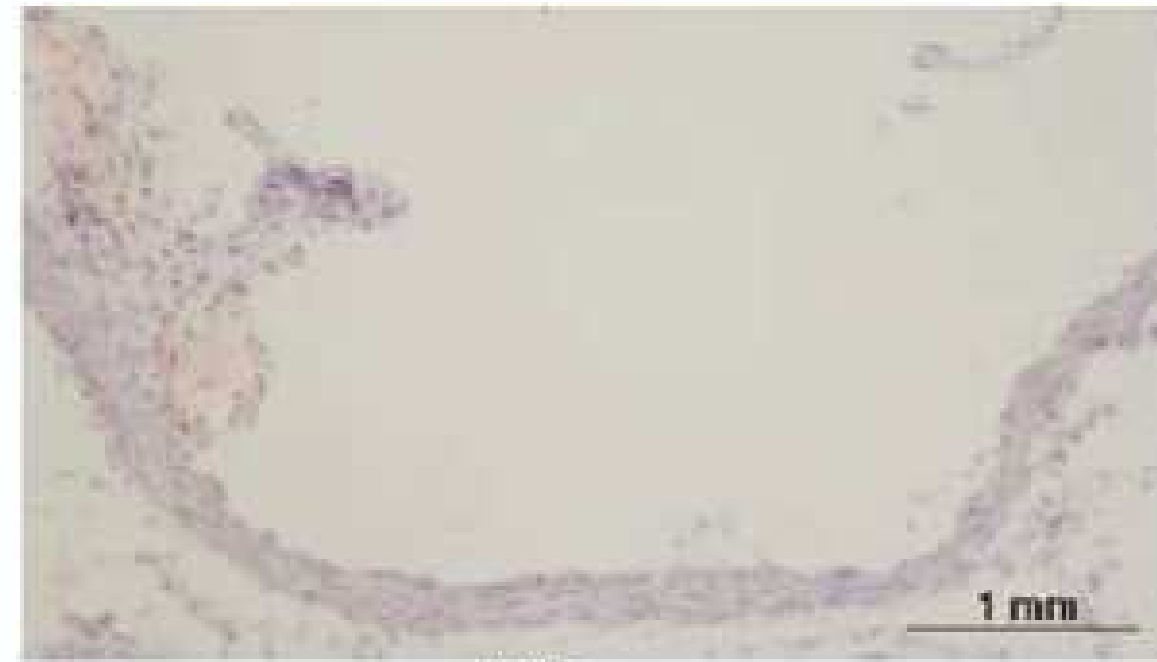
Concentrazioni sieriche del **colesterolo** (mg/dL)

B

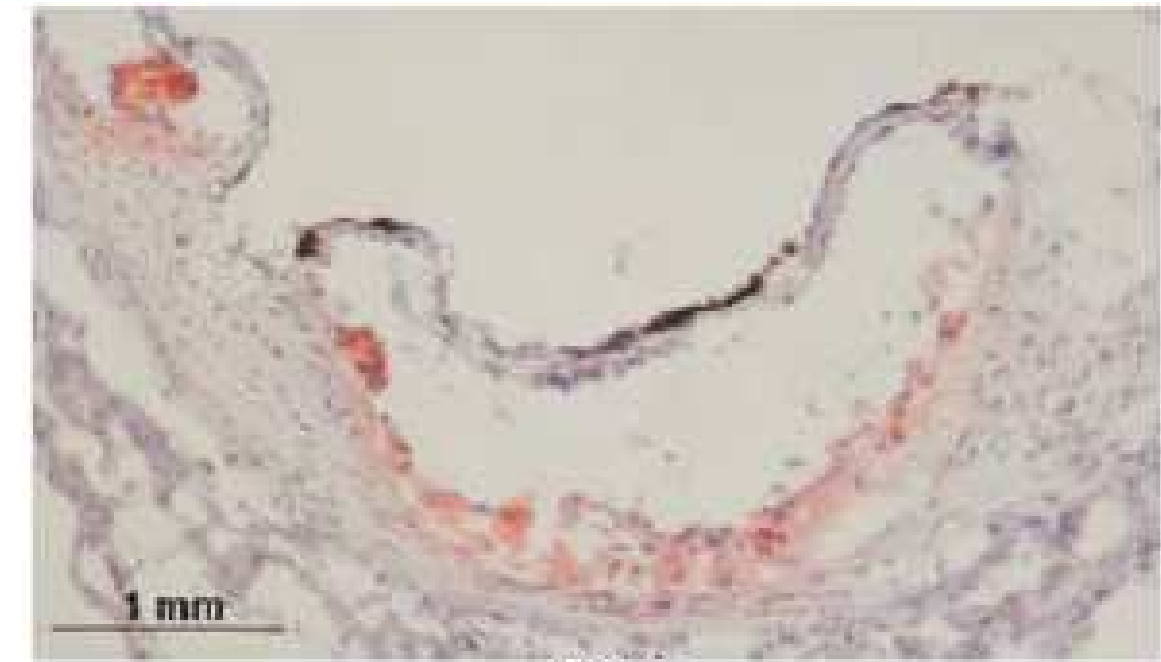


Distribuzione **lipoproteine** sieriche (mg/dL)

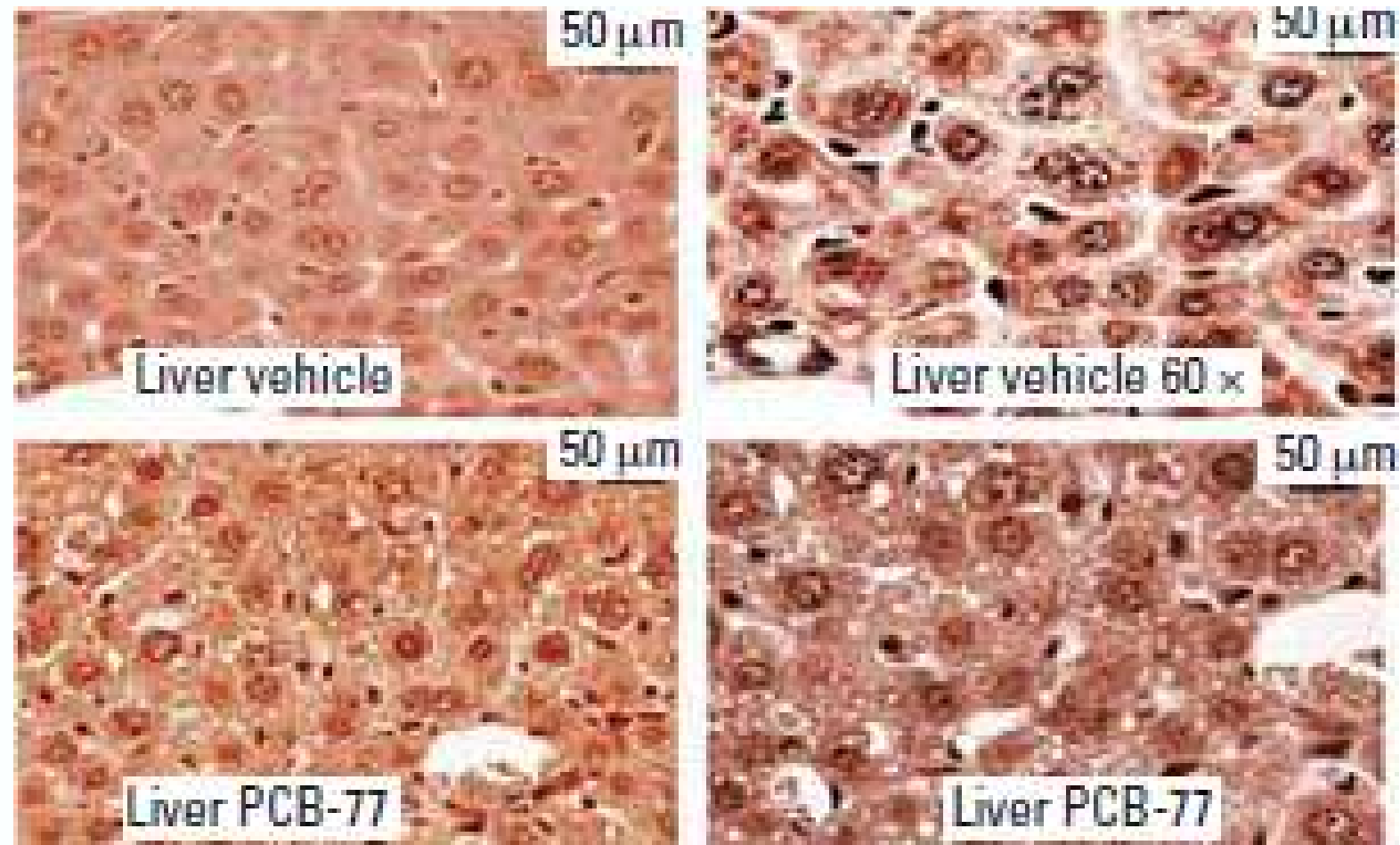
Sezione ramo aortico -
**Analisi istologica in
microscopia ottica** -
colorazione olio rosso O



Vehicle



PCB-77



Cavità addominale di cavie iniettate con veicolo o con PCB-77



Vehicle



PCB-77

Valutazione della concentrazione di lipidi in
vacuoli di epatociti - colorazione olio rosso O

Conclusioni

- Il PCB-77 promuove la differenziazione delle cellule 3T3-L1 e induce l'espressione delle adipochine pro-infiammatorie, mentre inibisce il rilascio dell'adiponectina
- Gli effetti del PCB-77 sono mediati dal recettore AhR
- Nei *topi ApoE -/-*:
 1. adipociti ipertrofici
 2. aterosclerosi
 3. aumento delle VLDL

Risposta non monotonica:

- Esposizione a basse dosi di PCB-77 → obesità e patologie correlate
- Esposizione ad alte dosi di PCB-77 → sindrome da deperimento

Si ringrazia per
l'attenzione!

Riassunto

Esistono diverse sostanze chimiche ambientali, note con il nome di ***interferenti endocrini***, in grado di alterare i normali pattern ormonali dell'organismo.

Il sistema endocrino si occupa di mantenere l'omeostasi dell'individuo, incluso il metabolismo di grassi, carboidrati e proteine, contribuendo, inoltre, a mantenere l'equilibrio energetico. Gli ***obesogeni*** sono interferenti endocrini capaci di alterare tali processi ormonali portando ad uno squilibrio del metabolismo, quindi aumentando le possibilità di sviluppare **obesità, aterosclerosi** e in generale di provocare la comparsa di fattori di rischio che definiscono un profilo patologico noto con il nome di **sindrome metabolica**.

Lo studio ha lo scopo di presentare gli effetti, ottenuti *in vitro* e *in vivo*, dell'esposizione al **policlorobifenile 77 (PCB-77)** sul differenziamento degli adipociti, sul rilascio di adipochine pro-infiammatorie, sull'aumento del peso corporeo e sullo sviluppo dell'aterosclerosi.

E' emerso che a basse dosi il PCB-77, previa **mediazione del recettore AhR**, è in grado di indurre il differenziamento degli adipociti, il rilascio di adipochine pro-infiammatorie e l'espressione di proteine coinvolte in tali processi, quali il PPAR γ , la proteina aP2, il TNF- α e il CD36.

Medesimi risultati non sono stati osservati ad elevate concentrazioni del contaminante.

Dalle evidenze emerse si deduce che l'esposizione a **bassi livelli di PCB-77** induce lo sviluppo dell'obesità e di disturbi patologici correlati.

Bibliografia

Arsenescu, V., Arsenescu, R. I., King, V., Swanson, H., & Cassis, L. A. (2008). Polychlorinated biphenyl-77 induces adipocyte differentiation and proinflammatory adipokines and promotes obesity and atherosclerosis. Environmental health perspectives, 116(6), 761-768.

Brodie, A. E., Azarenko, V. A., & Hu, C. Y. (1997). Inhibition of increases of transcription factor mRNAs during differentiation of primary rat adipocytes by in vivo 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) treatment. Toxicology letters, 90(2-3), 91-95.

Phillips, M., Enan, E., Liu, P. C., & Matsumura, F. (1995). Inhibition of 3T3-L1 adipose differentiation by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Journal of cell science, 108(1), 395-402.