



OSPEDALE
SANT' ANDREA



AMBIENTE E' SALUTE:
Il progetto PREVIENI
Interferenti endocrini, ambiente e
salute riproduttiva

Roma, 25 ottobre 2011

Aula Magna Rettorato Sapienza
Università di Roma

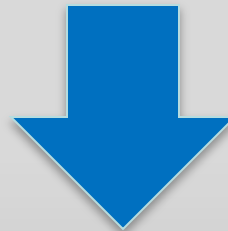
RISULTATI E CORRELAZIONI CLINICHE

Francesca Ciardo

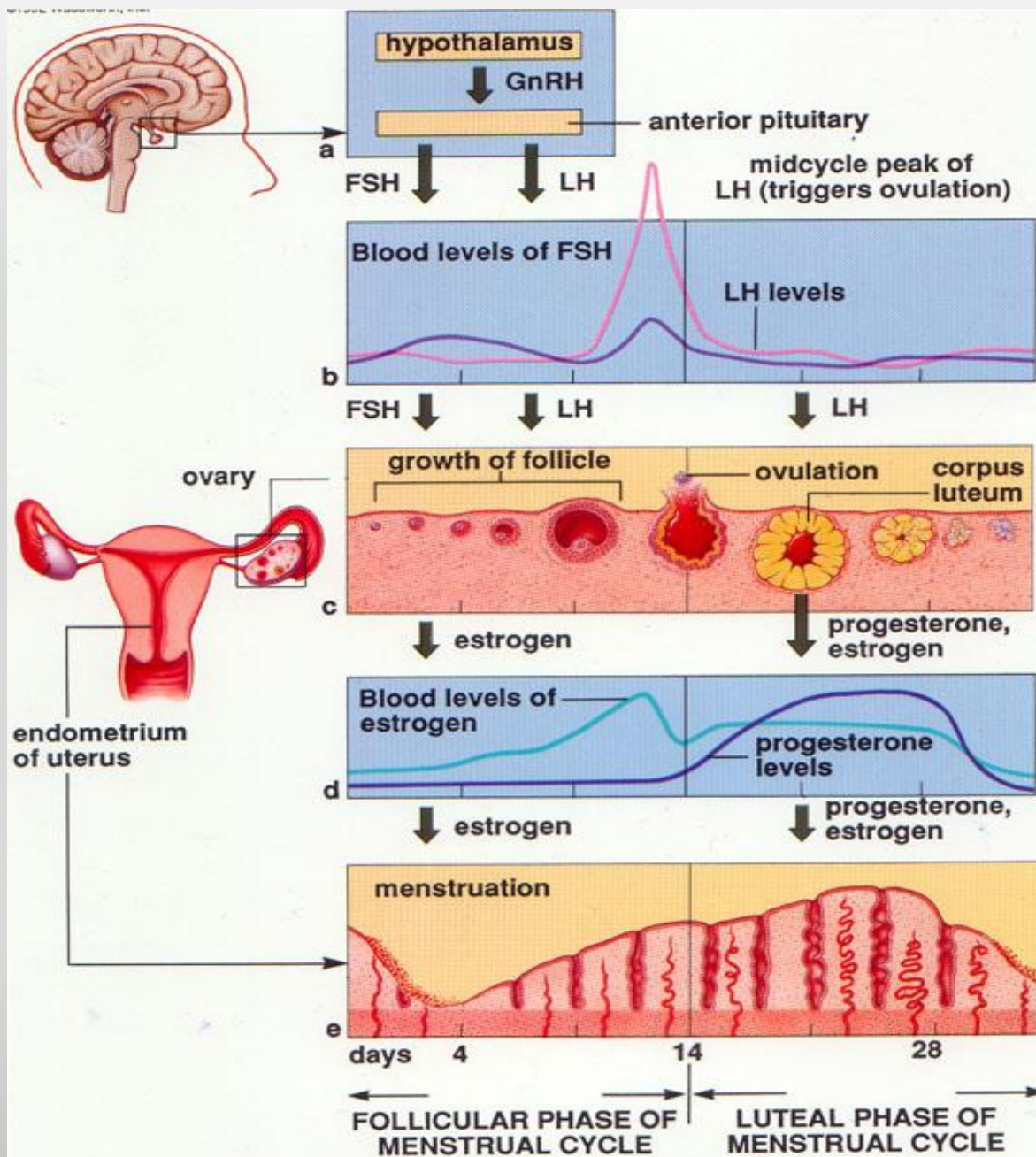
Dipartimento Salute della Donna e Medicina Territoriale

Aspetti clinici risultati PREVIENI

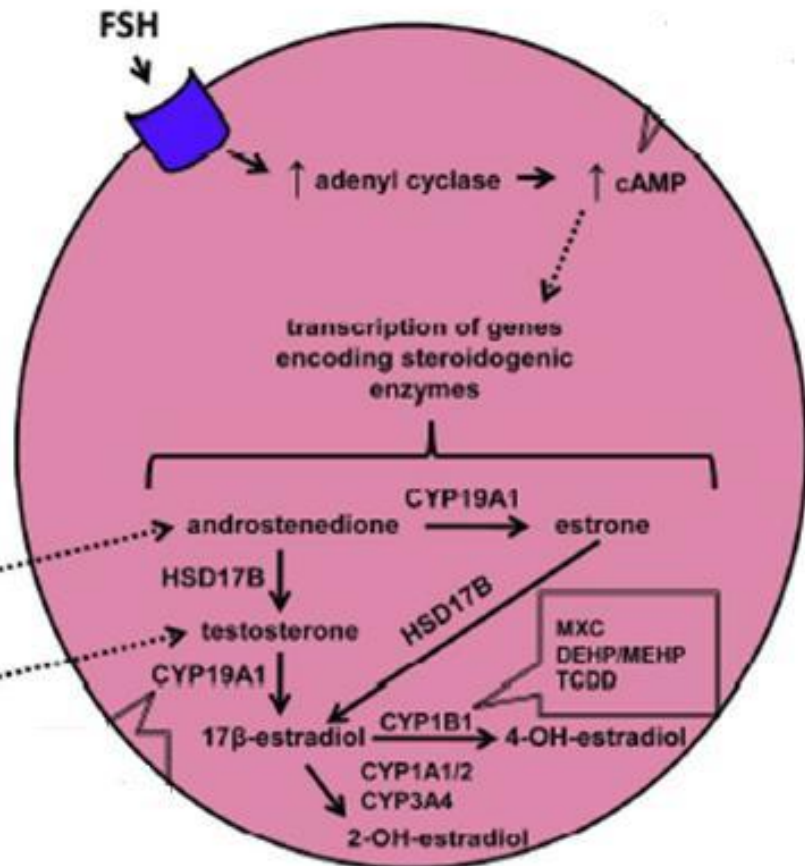
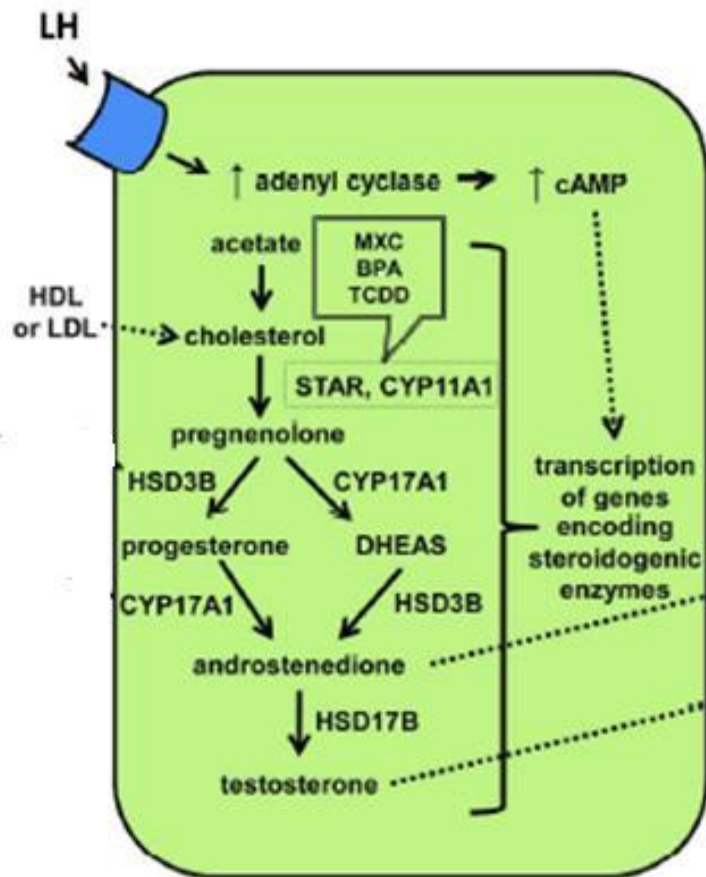
- ✓ Corretto sviluppo di ogni organo del sistema riproduttivo
- ✓ Corretta funzionalità di ogni organo del sistema riproduttivo;
- ✓ Corretta regolazione ormonale di tutto il sistema riproduttivo

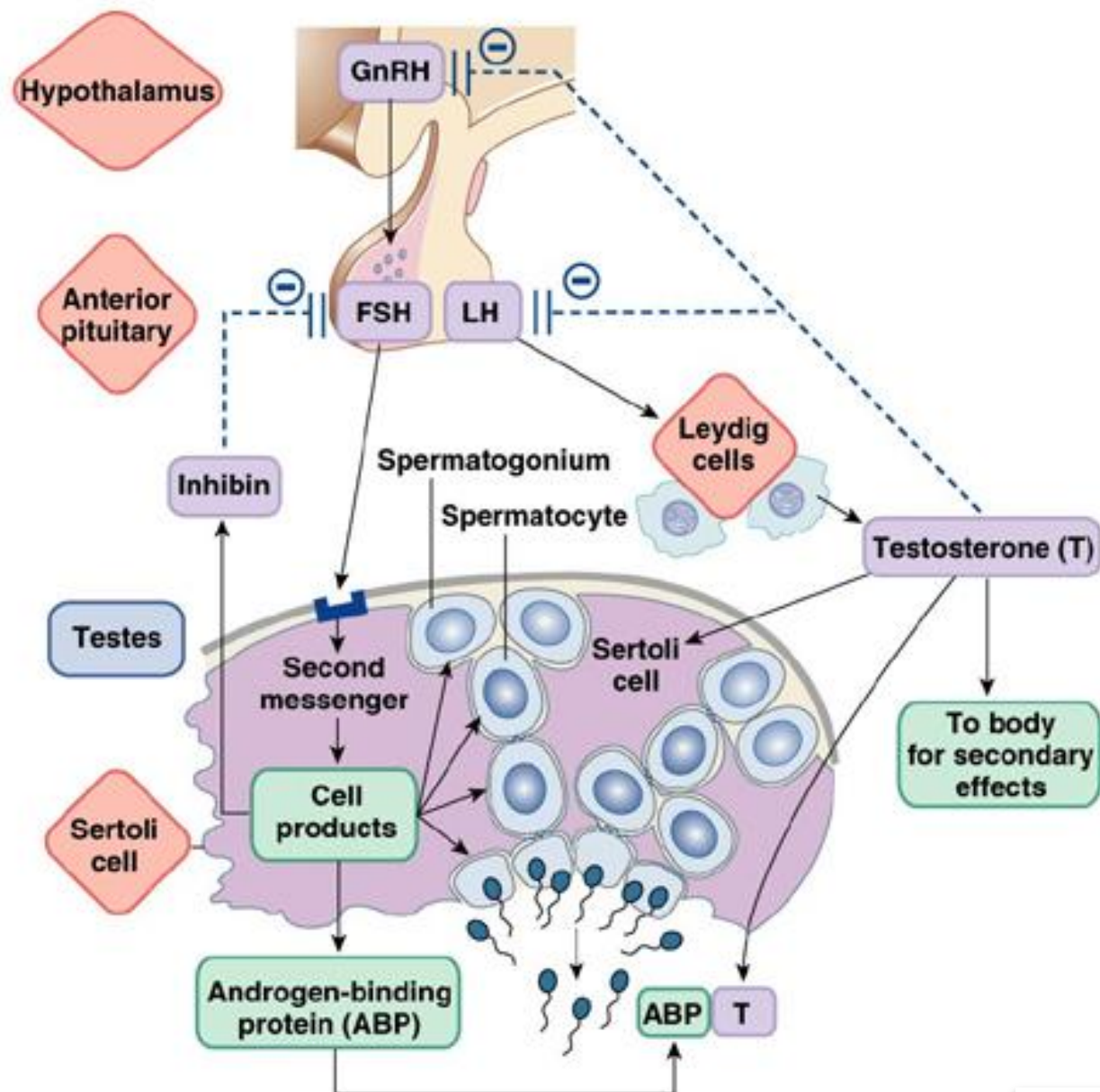


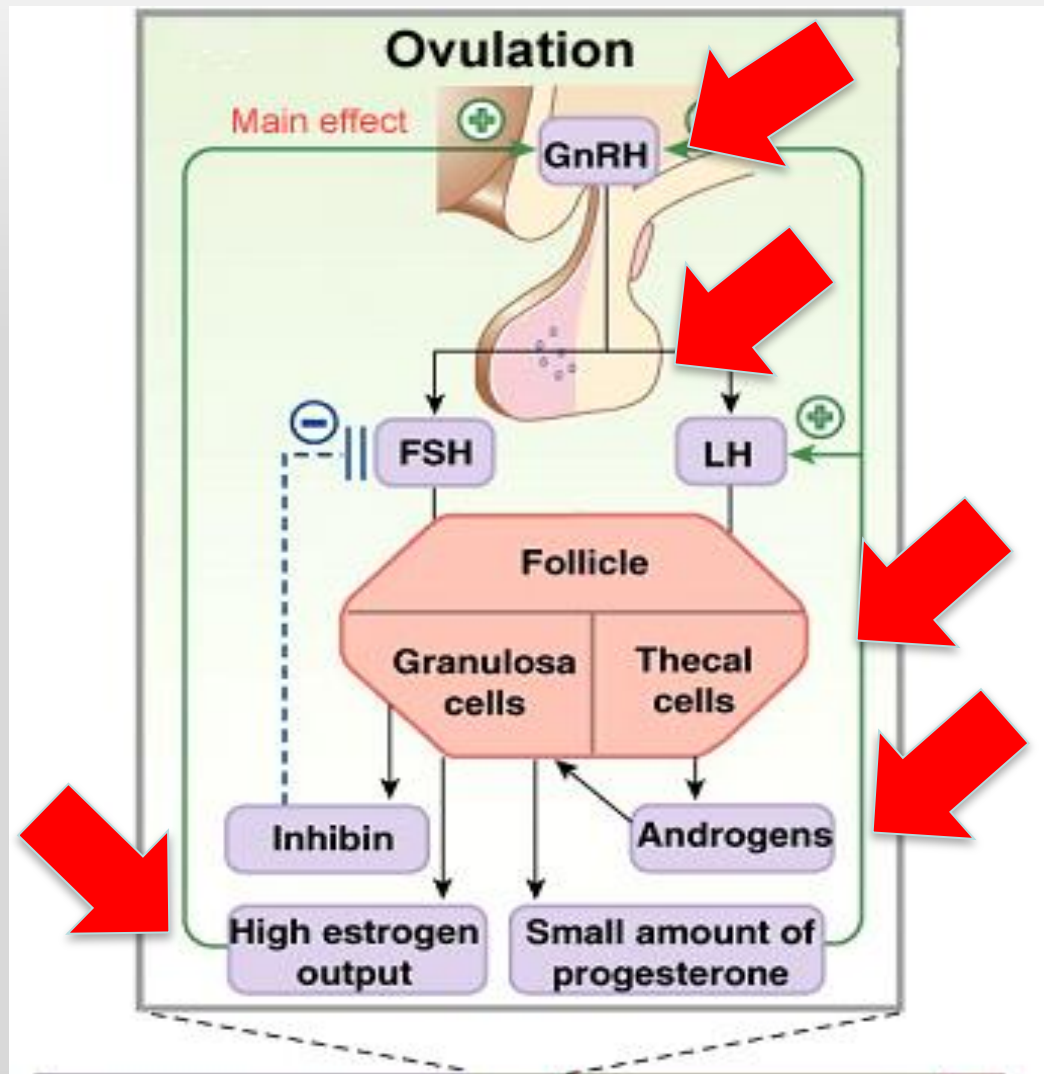
NORMALE FUNZIONE RIPRODUTTIVA



Changing hormone levels during the menstrual cycle.





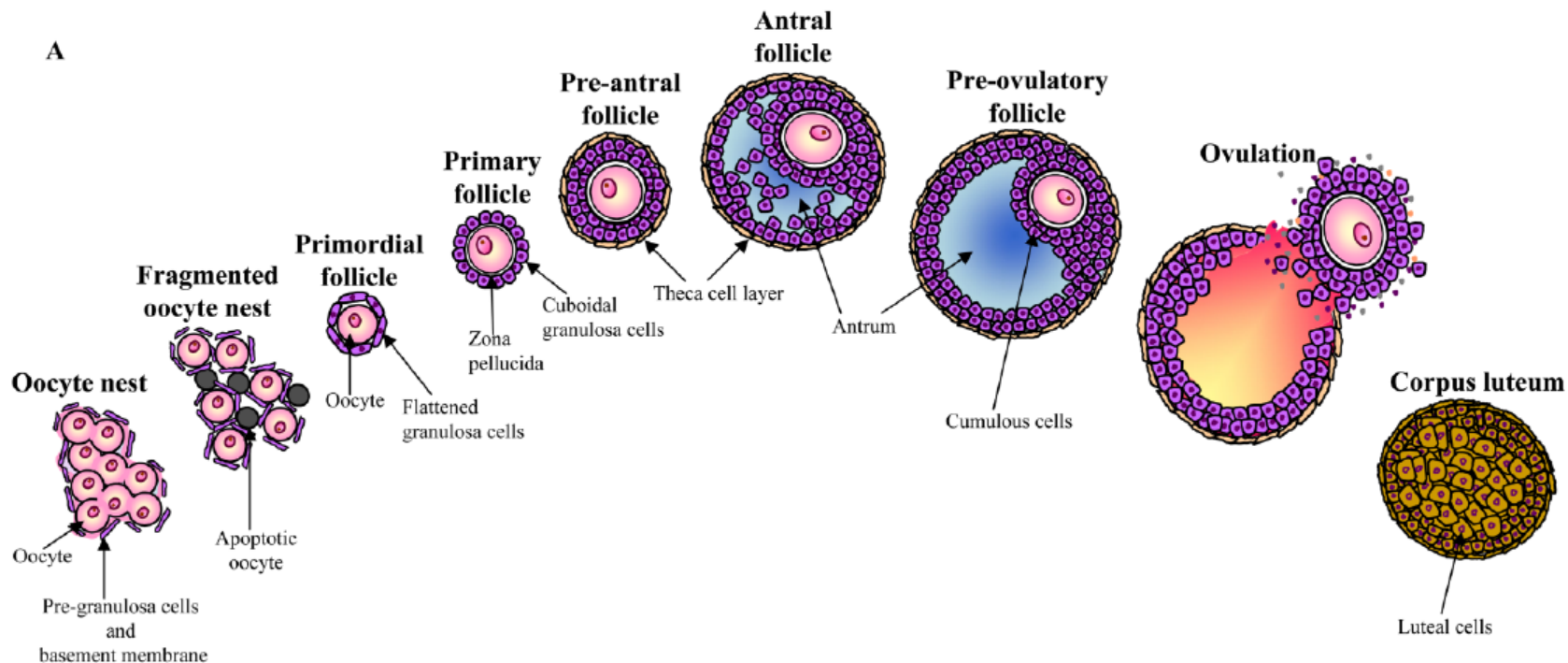


**ALTERAZIONE DELLA NORMALE
FUNZIONE RIPRODUTTIVA**

Risultati PREVIENI

DONNE:

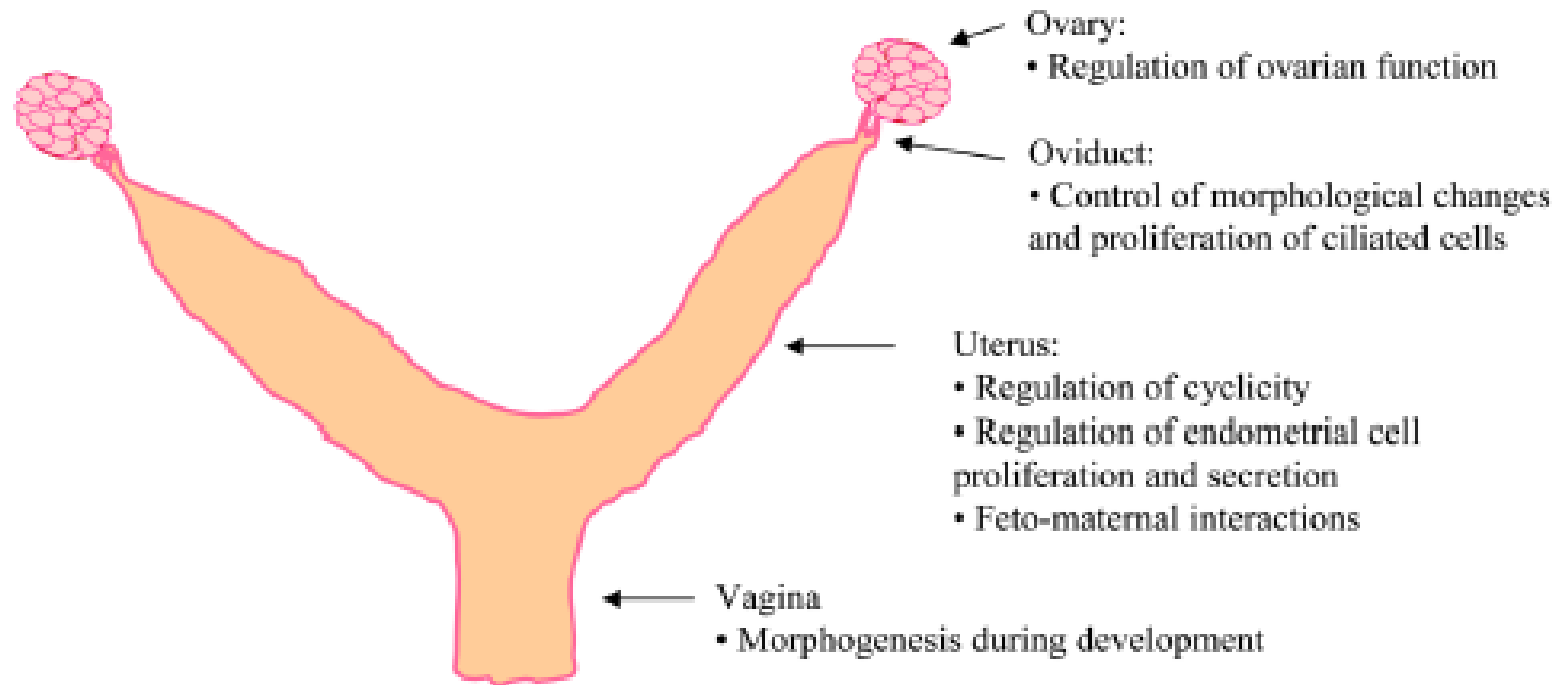
- 1) Le donne infertili di Roma rispetto al gruppo controllo hanno aumentata l'espressione dei recettori per gli estrogeni α e β (ER α , ER β), per gli androgeni (AR), del recettore arilico (AhR) e del recettore del pregnano (PXR);
- 2) Le donne infertili di Sora hanno maggiore espressione di AR rispetto al gruppo controllo;
- 3) Le donne infertili di Ferrara hanno una minore espressione di PPAR γ rispetto al gruppo controllo
- 4) Le donne infertili di Roma hanno livelli di BPA maggiori rispetto al gruppo controllo;
- 5) Le donne con livelli maggiori di BPA sono quelle con BMI >25 (p=0.06);
- 6) L'alterazione dell'espressione di ER α , ER β , AR, AhR, PXR è più marcata nelle donne con età > 35 anni;
- 7) Le donne infertili di Roma con endometriosi hanno concentrazioni di PFOS e DEPH più elevate e PPAR γ maggiormente espresso rispetto alle donne infertili senza endometriosi.



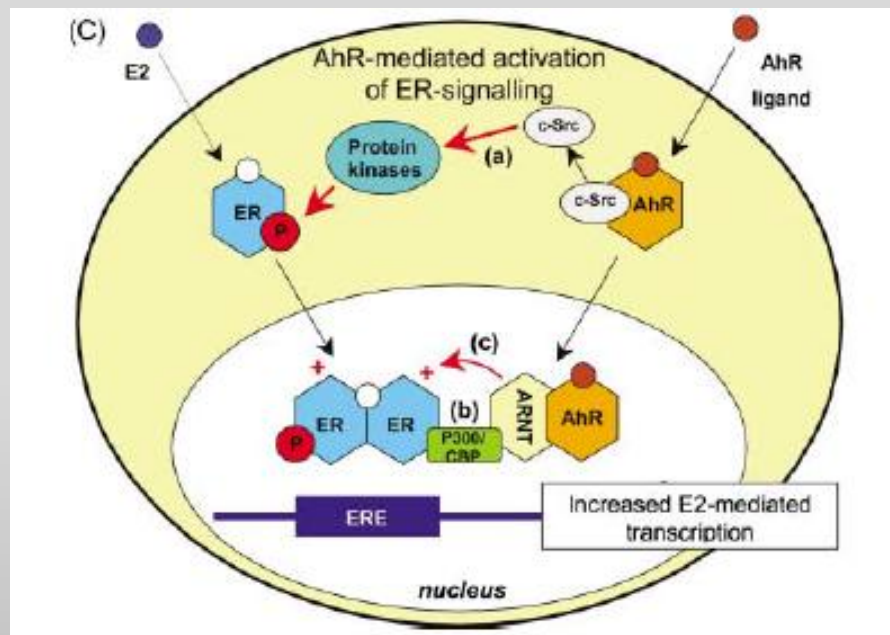
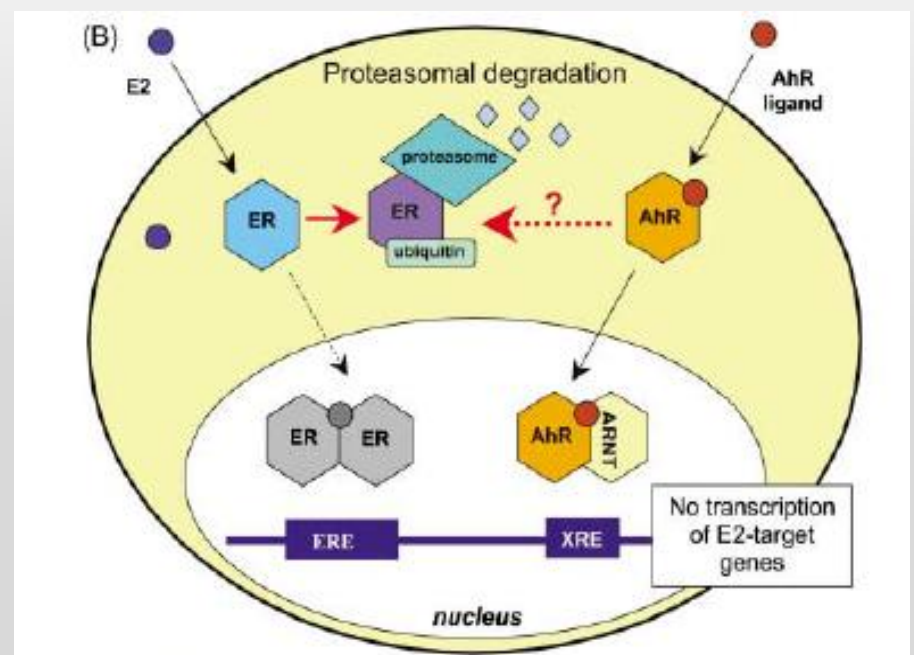
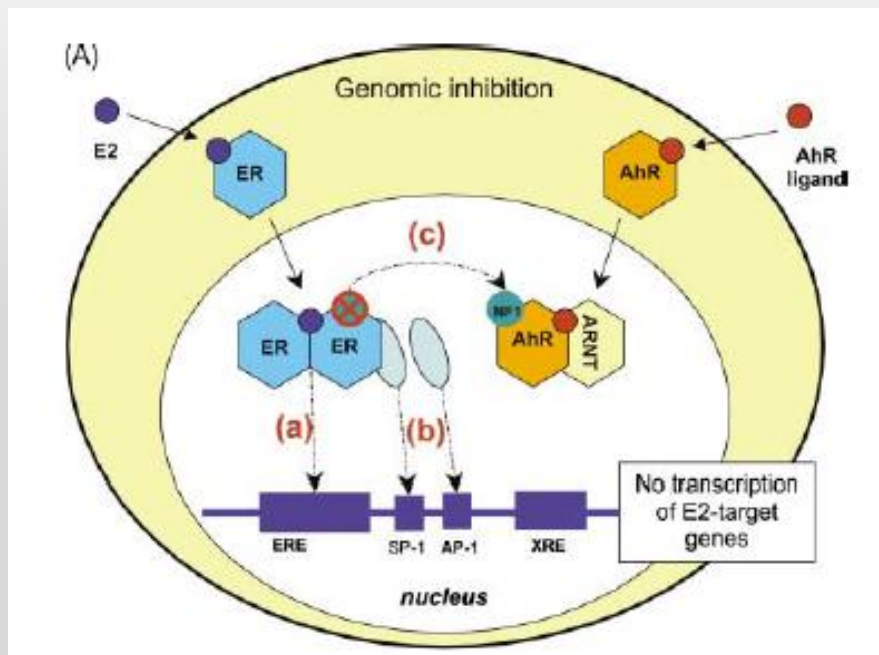
B

Developmental Stages	Oocyte nests before birth	Primordial follicles	Primary follicles	Pre-antral/antral follicles	Ovulation	Corpora Lutea
Roles of the AHR	Oocyte death/survival Transcriptional control of pro-apoptotic factor Bax	Oocyte death/survival Transcriptional control of pro-apoptotic factor Bax Timing or process of primordial follicle formation Number of primordial follicles during early neonatal life	Oocyte death/survival	Follicle growth Granulosa cell proliferation Number of pre-antral/antral follicles Estradiol synthesis and metabolism	Rate and number of ovulations Response to hormones due to regulation of the levels of Fshr, Lhcgr, Esr1 and Esr2 in antral follicles Oocyte maturation Follicle rupture	Number of CLs

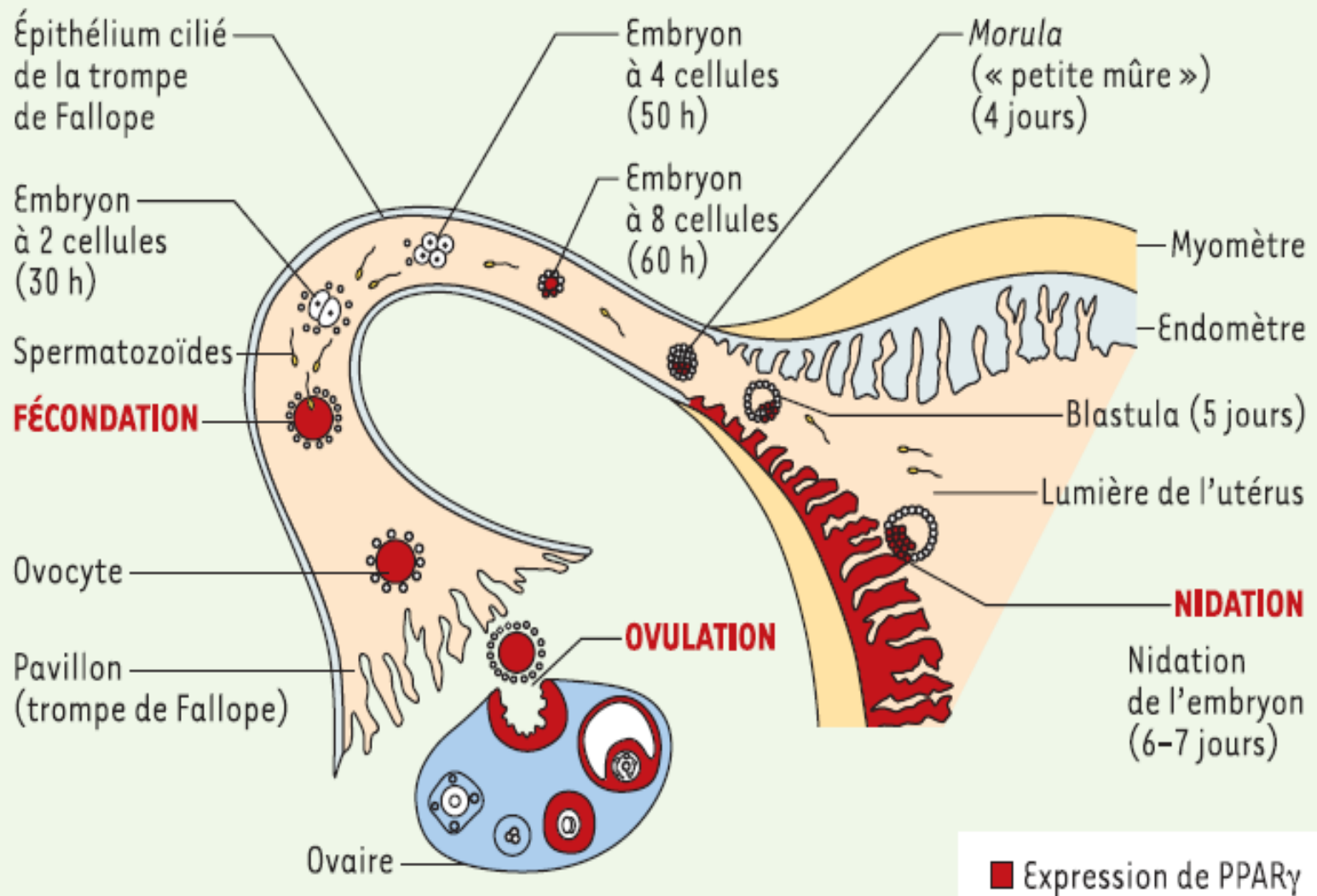
(Hernandez-Ochoa et al, Biochem Pharmacol 2009)



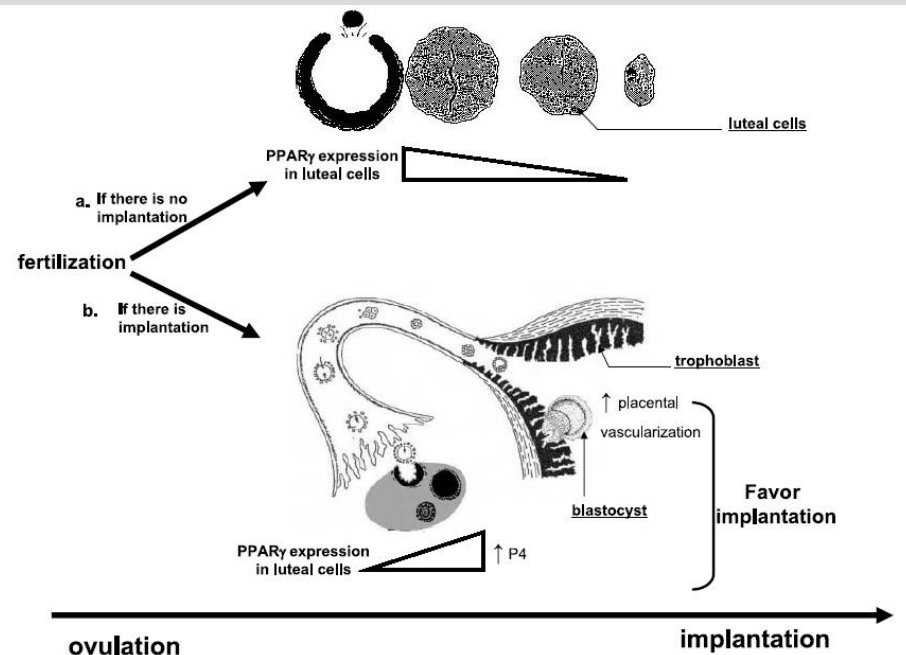
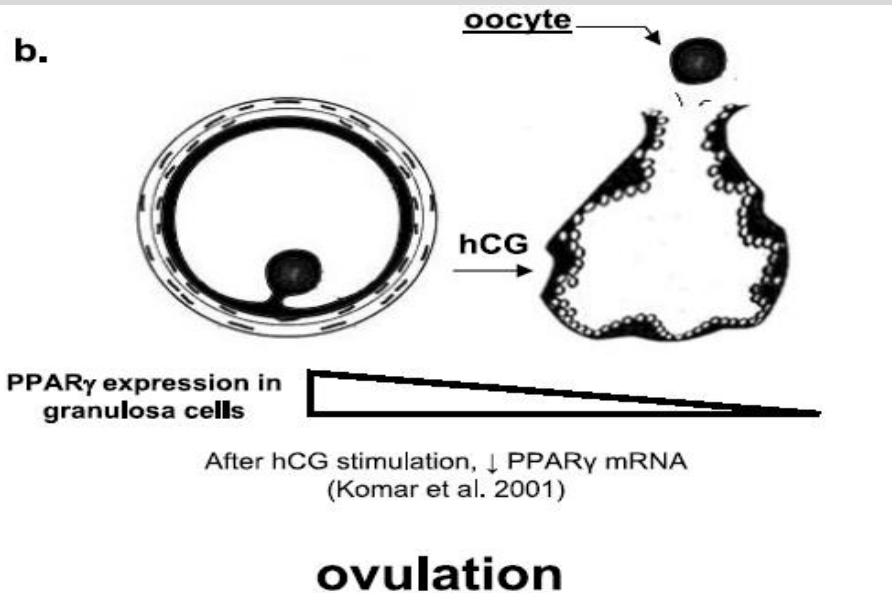
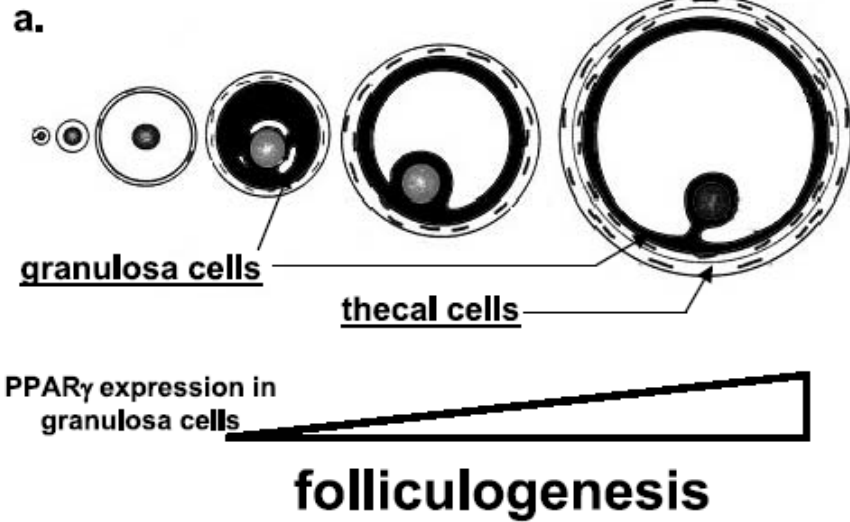
(Hernandez-Ochoa et al, Biochem Pharmacol 2009)



(Pocar et al., Reproduction 2005)



(Froment, Medicine/Science 2005)



(Froment et al, J of Endocrinol 2006)

Aspetti clinici risultati PREVIENI

Alterata espressione ER α , ER β , AR, AhR, PXR, PPAR γ



- ✓ Alterazione sviluppo e maturazione organi sistema riproduttivo
- ✓ Disregolazione della funzionalità degli organi del sistema riproduttivo:
 - ovaie (follicologenesi, ovulazione, steroidogenesi);
 - utero (ciclicità endometriale);
 - tube (motilità)
 - vagina (morfologia e funzione)
- ✓ Alterazione della regolazione ormonale del sistema riproduttivo

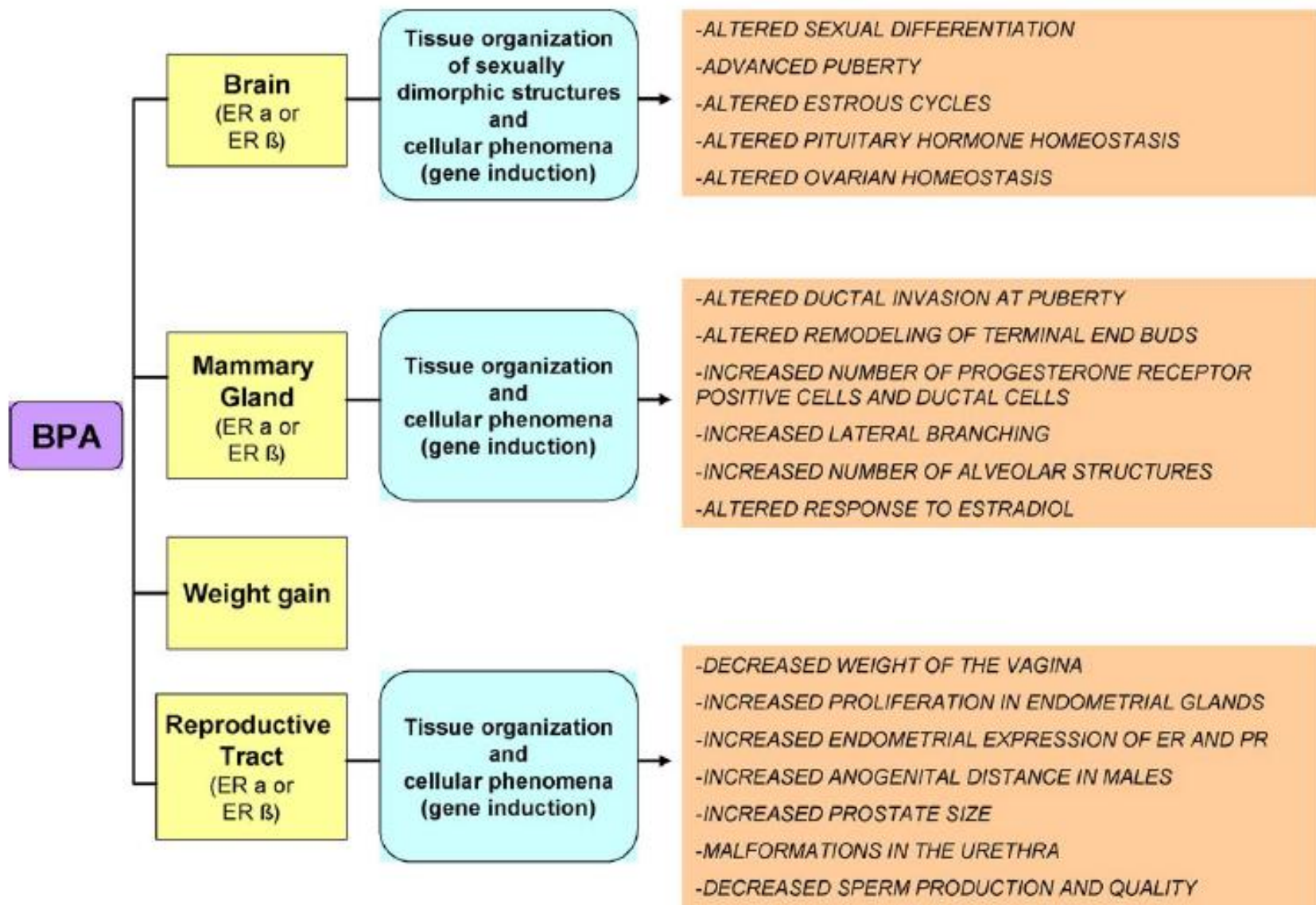


INFERTILITA'

Risultati PREVIENI

DONNE:

- 1) Le donne infertili di Roma rispetto al gruppo controllo hanno aumentata l'espressione dei recettori per gli estrogeni α e β (ER α , ER β), per gli androgeni (AR), del recettore arilico (AhR) e del recettore del pregnano (PXR);
- 2) Le donne infertili di Sora hanno maggiore espressione di AR rispetto al gruppo controllo;
- 3) Le donne infertili di Ferrara hanno una minore espressione di PPAR γ rispetto al gruppo controllo;
- 4) Le donne infertili di Roma hanno livelli di BPA maggiori rispetto al gruppo controllo;
- 5) Le donne con livelli maggiori di BPA sono quelle con BMI >25;
- 6) L'alterazione dell'espressione di ER α , ER β , AR, AhR, PXR è più marcata nelle donne con età > 35 anni;
- 7) Le donne infertili di Roma con endometriosi hanno concentrazioni di PFOS e DEPH più elevate e PPAR γ maggiormente espresso rispetto alle donne infertili senza endometriosi.



(Maffini et al., Molecular and Cellular Endocrinology 2006)

BPA e fertilità

OVOCITI:
alterazione meiosi

ASSE IPOTALAMO-
IPOFISI- OVAIO:
alterazione picco LH

INFERTILITA'

UTERO: alterazione
proliferazione e
differenziamento
cellule endometriali

OVAIO:
alterazione
steroidogenesi




Risultati PREVIENI

DONNE:

- 1) Le donne infertili di Roma rispetto al gruppo controllo hanno aumentata l'espressione dei recettori per gli estrogeni α e β (ER α , ER β), per gli androgeni (AR), del recettore arilico (AhR) e del recettore del pregnano (PXR);
- 2) Le donne infertili di Sora hanno maggiore espressione di AR rispetto al gruppo controllo;
- 3) Le donne infertili di Ferrara hanno una minore espressione di PPAR γ rispetto al gruppo controllo;
- 4) Le donne infertili di Roma hanno livelli di BPA maggiori rispetto al gruppo controllo;
- 5) Le donne con livelli maggiori di BPA sono quelle con BMI >25;
- 6) L'alterazione dell'espressione di ER α , ER β , AR, AhR, PXR è più marcata nelle donne con età > 35 anni;
- 7) Le donne infertili di Roma con endometriosi hanno concentrazioni di PFOS e DEPH più elevate e PPAR γ maggiormente espresso rispetto alle donne infertili senza endometriosi.

Età e infertilità

- ✓ La correlazione tra l'età della donna e la riduzione della fertilità è ormai ben nota;
- ✓ La fertilità subisce un netto calo tra i 35 e i 40 anni e risulta molto bassa dopo i 40 anni per:
 - riduzione del patrimonio follicolare residuo;
 - scarsa qualità ovocitaria (incremento delle anomalie cromosomiche e genetiche con conseguente riduzione del tasso di fecondazione);
 - maggiore incidenza di patologie uterine e non che ostacolano l'impianto (endometriosi, polipi, fibromi, alterazioni circolatorie);
 - alterazione dell'espressione di $ER\alpha$, $ER\beta$, AR, AhR, PXR  disfunzione del sistema riproduttivo.

Risultati PREVIENI

DONNE:

- 1) Le donne infertili di Roma rispetto al gruppo controllo hanno aumentata l'espressione dei recettori per gli estrogeni α e β (ER α , ER β), per gli androgeni (AR), del recettore arilico (AhR) e del recettore del pregnano (PXR);
- 2) Le donne infertili di Sora hanno maggiore espressione di AR rispetto al gruppo controllo;
- 3) Le donne infertili di Ferrara hanno una minore espressione di PPAR γ rispetto al gruppo controllo;
- 4) Le donne infertili di Roma hanno livelli di BPA maggiori rispetto al gruppo controllo;
- 5) Le donne con livelli maggiori di BPA sono quelle con BMI >25;
- 6) L'alterazione dell'espressione di ER α , ER β , AR, AhR, PXR è più marcata nelle donne con età > 35 anni;
- 7) Le donne infertili di Roma con endometriosi hanno concentrazioni di PFOS e DEHP più elevate e PPAR γ maggiormente espresso rispetto alle donne infertili senza endometriosi.

ENDOMETRIOSI E INFERTILITA'

- ✓ Patologia estrogeno-dipendente caratterizzata dalla presenza di tessuto endometriale al di fuori della cavità uterina (ovaio, tube, peritoneo, vescica, retto, localizzazioni a distanza);
- ✓ Colpisce 1 donna su 10 in età fertile;
- ✓ Patogenesi multifattoriale (fattori genetici, immunologici, ormonali, ambientali);
- ✓ Causa frequente di infertilità (il 30% delle donne con endometriosi è affetta da infertilità);
- ✓ L'endometriosi provoca infertilità per:
 - distorsione anatomia pelvica;
 - scarsa riserva ovarica;
 - scarsa qualità ovocitaria;
 - ostacolo all'impianto (liquido peritoneale ricco di citochine, fattori di crescita, macrofagi attivati tossico per gli spermatozoi ed embrione)

(Bulun et al., Semin Reprod Med 2010)

POSSIBILI AZIONI PER L'ENDOMETRIOSI

1) TEORIA ESTROGENICA:

Possibili effetti estrogenici di contaminanti ambientali come diossina e sostanze diossino-simili

(Foster WG ,Journal of Toxicology and Environmental Health, 2008)

2) INTERFERENZA CON IL SISTEMA IMMUNITARIO:

Una disfunzione del sistema dei monociti-macrofagi peritoneali potrebbe contribuire al mantenimento di uno stato infiammatorio ed al progredire del processo endometriosico.

(Caserta et al, Hum Reprod Update 2008)

DEHP e PFOS



PPAR γ

- metabolismo lipidico;
- crescita e differenziazione adipociti;
- controllo differenziazione cellulare (cellule della granulosa);
- **CONTROLLO SISTEMA IMMUNITARIO**
(TNF- α , IL1 β , IL-6, prostaglandine)



anomala secrezione di citochine infiammatorie da parte dei monociti circolanti



mantenimento di uno stato infiammatorio e
progressione del processo endometriosico

Risultati PREVIENI

UOMINI:

- 1) Gli uomini infertili di Roma hanno una concentrazione di BPA e PFOS maggiore rispetto al gruppo controllo;
- 2) Gli uomini infertili di Roma hanno una maggiore espressione del AhR rispetto al gruppo controllo;
- 3) Gli uomini infertili di Ferrara hanno una maggiore espressione del PXR rispetto al gruppo controllo.

Environmental toxicants and male reproductive function

C. Yan Cheng,^{1,*} Elissa W.P. Wong,¹ Pearl P.Y. Lie,¹ Michelle W.M. Li,¹ Linlin Su,¹ Erica R. Siu,¹ Helen H.N. Yan,¹ Jayakanthan Mannu,² Premendu P. Mathur,² Michele Bonanomi,³ Bruno Silvestrini,³ and Dolores D. Mruk,¹

¹Center for Biomedical Research; The Population Council; New York, NY USA; ²Center for Bioinformatics; School of Life Sciences; Pondicherry University; Pondicherry, India; and ³The Noopolis Foundation; Rome, Italy

Environmental toxicants, such as cadmium and bisphenol A (BPA) are endocrine disruptors. In utero, perinatal or neonatal exposure of BPA to rats affect the male reproductive function, such as the blood-testis barrier (BTB) integrity. This effect of BPA on BTB integrity in immature rats is likely mediated via a loss of gap junction function at the BTB, failing to coordinate tight junction and anchoring junction function at the site to maintain the immunological barrier integrity. This in turn activates the extracellular signal-regulated kinases 1/2 (Erk1/2) downstream and an increase in protein endocytosis, destabilizing the BTB. The cadmium-induced disruption of testicular dysfunction is mediated initially via its effects on the occludin/ZO-1/focal adhesion kinase (FAK) complex at the BTB, causing redistribution of proteins at the Sertoli-Sertoli cell interface, leading to the BTB disruption. The damaging effects of these toxicants to testicular function are mediated by mitogen-activated protein kinases (MAPK)

downstream, which in turn perturbs the actin bundling and accelerates the actin-branching activity, causing disruption of the Sertoli cell tight junction (TJ)-barrier function at the BTB and perturbing spermatid adhesion at the apical ectoplasmic specialization (apical ES, a testis-specific anchoring junction type) that leads to premature release of germ cells from the testis. However, the use of specific inhibitors against MAPK was shown to block or delay the cadmium-induced testicular injury, such as BTB disruption and germ cell loss. These findings suggest that there may be a common downstream p38 and/or Erk1/2 MAPK-based signaling pathway involving polarity proteins and actin regulators that is shared between different toxicants that induce male reproductive dysfunction. As such, the use of inhibitors and/or antagonists against specific MAPKs can possibly be used to “manage” the illnesses caused by these toxicants and/or “protect” industrial workers being exposed to high levels of these toxicants in their work environment.

Endocrine disruptors and reproductive health: The case of bisphenol-A

Maricel V. Maffini, Beverly S. Rubin, Carlos Sonnenschein, Ana M. Soto^{*}

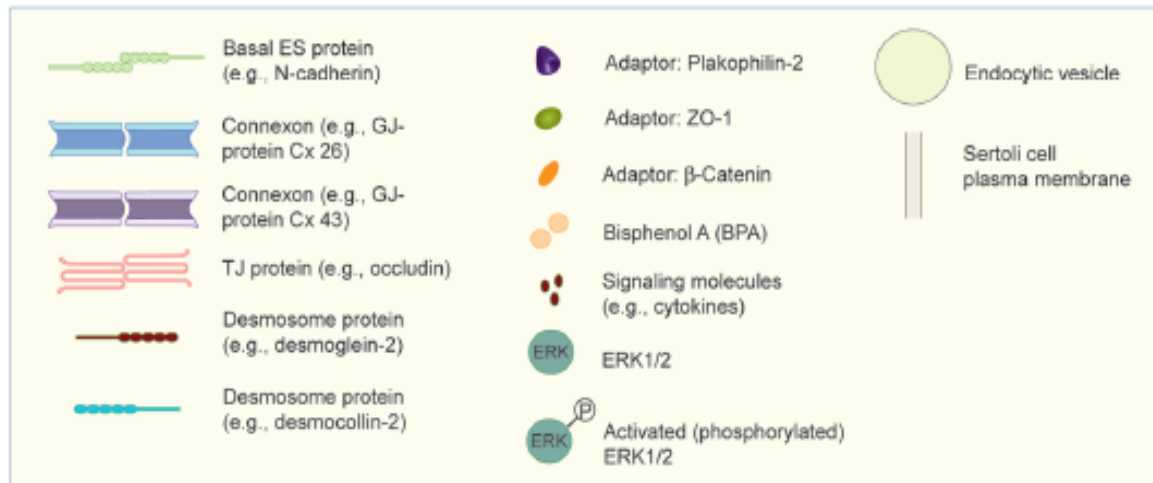
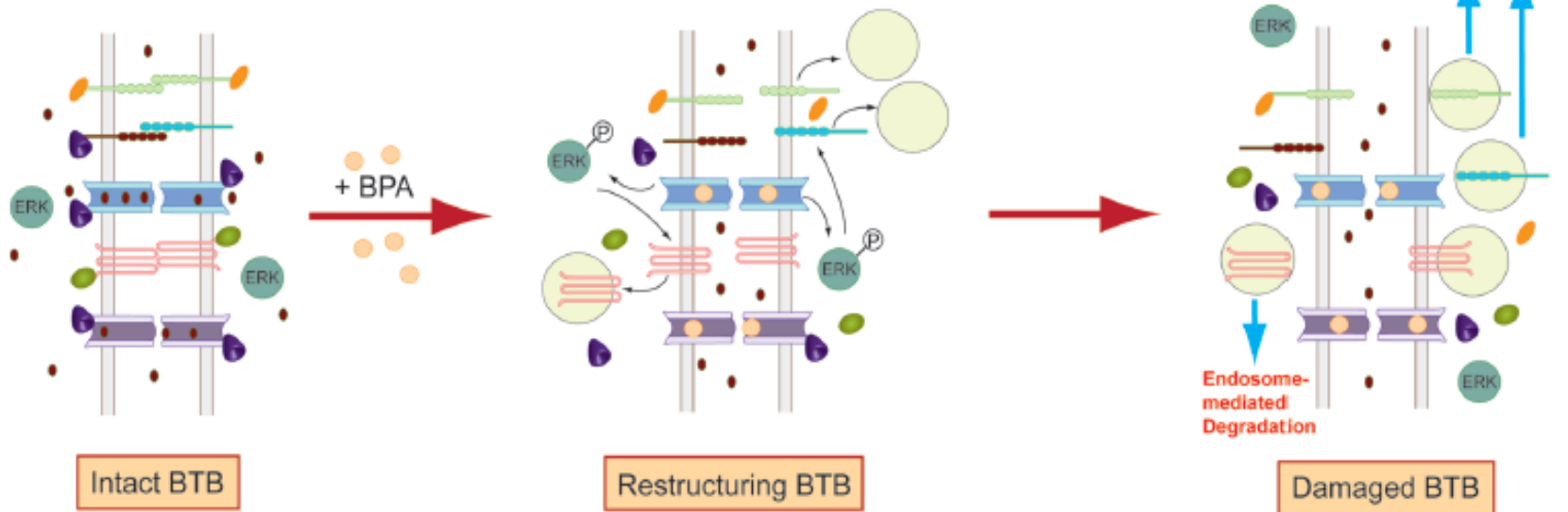
Tufts University School of Medicine, Department of Anatomy and Cellular Biology, 136 Harrison Avenue, Boston, MA 02111, United States

Do Perfluoroalkyl Compounds Impair Human Semen Quality?

Ulla Nordström Joensen,¹ Rossana Bossi,² Henrik Leffers,¹ Allan Astrup Jensen,³ Niels E. Skakkebæk,¹ and Niels Jørgensen¹

¹University Department of Growth and Reproduction, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark; ²National Environmental Research Institute, University of Aarhus, Roskilde, Denmark; ³FORCE Technology, Brøndby, Denmark

BPA-induced failure in GJ-communication, leading to protein redistribution at the BTB via protein endocytosis



(Cheng et al, Spermatogenesis 2011)

Molecular interactions of the aryl hydrocarbon receptor and its biological and toxicological relevance for reproduction

P Pocar, B Fischer, T Klonisch¹ and S Hombach-Klonisch¹

© 2005 Society for Reproduction and Fertility

ISSN 1470-1626 (paper) 1741-7899 (online)

Conclusions

It is clear now that the many complex reproductive effects of dioxins and related compounds observed in mammals reflect four important findings:

1. Although the biological effects of dioxin-like compounds require the AhR, the role of this bHLH transcription factor extends beyond the activation of the AhR gene battery and includes also non-genomic pathways.
2. There exists an intricate network of interactions, direct and indirect, between sex steroid receptors and the AhR-ARNT system which can modify reproductive processes.
3. AhR-mediated actions affect all levels of a reproductive system, from the HPG axis to the reproductive organs themselves, causing adaptive short-term and irreversible long-term effects on the reproductive system.
4. Developmental and transgenic mouse studies have clearly demonstrated that the AhR transcription factor is more than just a xenobiotic sensor but potentially an integral key component of normal reproductive physiology.

Risultati PREVIENI

UOMINI:

- 1) Gli uomini infertili di Roma hanno una concentrazione di BPA e PFOS maggiore rispetto al gruppo controllo;
- 2) Gli uomini infertili di Roma hanno una maggiore espressione del AhR rispetto al gruppo controllo;
- 3) Gli uomini infertili di Ferrara hanno una maggiore espressione del PXR rispetto al gruppo controllo.

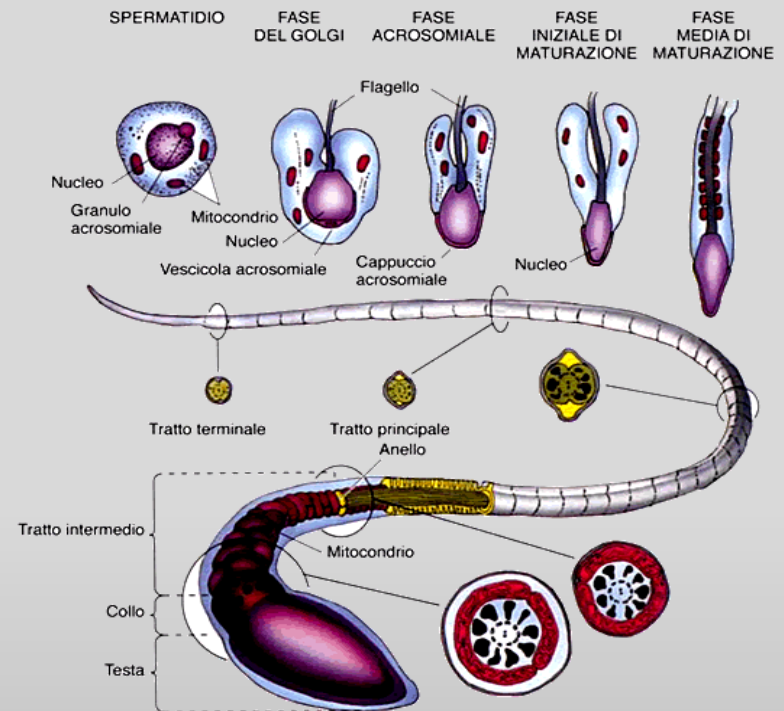
PXR e infertilità

- ✓ Recettore attivato da xenobiotici;
- ✓ Attivazione di enzimi di detossificazione;

- ✓ Ruolo nel metabolismo degli **ORMONI STEROIDEI**



- ✓ **AZIONE INDIRETTA** sulla spermatogenesi e sulla sintesi del testosterone



PREVIENI: CONCLUSIONI

- ✓ Alla corretta funzionalità del sistema riproduttivo presiedono molteplici meccanismi di regolazione finemente regolati tra di loro;
- ✓ Esistenza di un "crosstalk" tra i diversi meccanismi;
- ✓ L'alterazione di un singolo meccanismo può innescare dei cambiamenti a cascata che alla fine compromettono il funzionamento di tutto il sistema;
- ✓ Limitate evidenze sull'uomo dell'interferenza dell'esposizione ambientale ad IE sul sistema riproduttivo;
- ✓ PREVIENI dimostra che nella patogenesi dell'infertilità è presente una disregolazione dei recettori ormonali differente in ogni regione analizzata in accordo con una differente esposizione a interferenti endocrini;
- ✓ In futuro dati su:
 - 1) esposizione a più interferenti contemporaneamente;
 - 2) esposizioni per lungo tempo a basse concentrazioni;
 - 3) fase di sviluppo in cui avviene l'esposizione;
 - 4) complessità dei meccanismi di regolazione.



G
R
A
Z
I
E