

## **ANALISI EPIDEMIOLOGICA, GENETICA E EPIGENETICA DEI PAZIENTI CON CARCINOMA DEL SURRENE, IN RELAZIONE ALL'ESPOSIZIONE AD INQUINANTI AMBIENTALI**

**Proponenti: Massimo Terzolo, Salvatore Cannavò**

Il carcinoma del surrene è una rara neoplasia endocrina che può determinare ipersecrezione di ormoni steroidei. I meccanismi della tumorigenesi surrenale sono poco noti, così come le vie di segnale associate alla risposta terapeutica di farmaci adrenolitici. Il ruolo di inquinanti ambientali sulla tumorigenesi surrenale non è mai stato indagato.

Uno dei meccanismi di detossificazione più studiati nei tessuti sani e tumorali di numerose specie animali e nell'uomo, soprattutto negli ultimi anni, è quello dell'Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR). Questo recettore, inizialmente considerato orfano, lega oltre 400 differenti sostanze di cui la maggior parte sono esogene e il cui prototipo è rappresentato dalla diossina. L'attivazione di AhR comporta come evento finale la sintesi di enzimi di fase I e di fase II che hanno un ruolo fondamentale nella biologia cellulare e nella risposta ad alcuni farmaci, compresi quelli adrenolitici. Inoltre, sono stati riportati numerosi effetti non canonici che regolano la crescita e l'apoptosi cellulare.

In assenza del ligando AhR è parte di un complesso citosolico inattivato composto da due proteine heat shock (Hsp90), dalla proteina p23 che interagisce con HSP90 e dalla proteina che interagisce con AhR (AIP). I ligandi più comuni di AhR sono gli idrocarburi policiclici e polialogenati (benzopirene, 3-metil-colantrene) e altri tossici ambientali come la tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD). In seguito all'attivazione da parte dell'agonista AhR va incontro ad una modificazione conformazionale: trasloca nel nucleo, dove rilascia le sue proteine chaperone e dimerizza con la sua proteina partner, AhR translocator (ARNT). Il complesso eterodimerico attivato AhR/ARNT agisce come un fattore di trascrizione legando specifiche sequenze di DNA (denominate elementi di risposta agli xenobiotici, xenobiotic response elements [XREs]) e attivando quindi l'espressione dei geni target di AhR, ovvero quelli che codificano per gli enzimi del citocromo P450, coinvolti nel metabolismo e nell'eliminazione degli xenobiotici. Quando la regolazione trascrizionale è terminata, AhR è rapidamente degradato attraverso il pathway del proteosoma citosolico 26S. In aggiunta un repressore trascrizionale, noto come AhR repressor (AhRR), reprime l'attività trascrizionale di AhR legando ARNT.

Recenti lavori dimostrano che AhR è overespresso e costitutivamente attivato in una varietà di tumori umani e murini, inclusi quello esofageo, gastrointestinale, polmonare, pancreatico ed epatico tra gli altri. Studi sperimentali complessivamente dimostrano che, con poche

eccezioni, il knockdown di AhR risulta in una riduzione della proliferazione e/o invasione e migrazione delle linee cellulari neoplastiche.

Inoltre, studi in vivo in topi transgenici che overesprimono costitutivamente AhR (CA-AhR) hanno mostrato una maggiore incidenza di tumori gastrici ed epatici, suggerendo un ruolo pro-oncogenico di AhR. Infine la downregulation dell'mRNA di AhR e della sua proteina è stata riscontrata in numerose neoplasie maligne umane, il che suggerisce un ruolo anti-oncogenico di AhR.

Specificatamente per quanto concerne i tumori endocrini, i dati disponibili sull'associazione e/o il ruolo patogenetico di AhR sono relativamente scarsi al momento.

## **TUMORI SURRENALICI**

Nonostante diversi studi genetici ed in vitro riguardanti gli effetti dei distruttori endocrini sulla steroidogenesi nelle cellule surrenali dimostrino che l'esposizione ai composti diossina-like induce atrofia delle cellule surrenali ed inibizione della steroidogenesi, i dati relativi al ruolo potenziale del pathway di AhR attivato nella patogenesi dei tumori surrenali sono attualmente scarsi.

Alcuni autori hanno dimostrato che l'attività aromatasica è influenzata, sebbene in maniera bifasica, da diversi composti chimici nelle linee cellulari di carcinoma corticosurrenale, risultando in un' aumentata produzione di estrogeni e androgeni. Molto recentemente altri autori hanno valutato gli effetti di diversi bifenil-policlorurati (PCB) sulla steroidogenesi, dimostrando che l'esposizione ad alcuni PCBs aumenta la secrezione di estradiolo, progesterone e cortisolo in linee cellulari di carcinoma surrenale H265R.

Precedentemente altri studi hanno dimostrato che alcuni distruttori endocrini appartenenti a una grande famiglia di micotossine chimicamente correlate, come il deossinivalenolo, hanno effetti sulla vitalità cellulare, sulla steroidogenesi e sull'espressione genica in vitro, probabilmente inducendo down- o up-regulation di diversi enzimi di fase I.

Tuttavia studi concernenti gli effetti degli attivatori ambientali del pathway AhR sui tumori surrenali benigni o maligni e sulla loro produzione e secrezione di steroidi, così come studi genetici ed epigenetici riguardanti il pathway di AhR sulla tumorigenesi surrenalica, non sono stati condotti sinora.

## **PRESENTAZIONE DEL PROGETTO**

Il presente progetto è volto a investigare l'epidemiologia del carcinoma del surrene, in rapporto alla esposizione ad inquinanti ambientali, e il possibile ruolo del pathway di AhR sullo sviluppo, sulla proliferazione e sulle caratteristiche biologiche dei tumori surrenali.

End point primario:

- Epidemiologia del carcinoma del surrene in aree a differente rischio ambientale, definito secondo parametri riconosciuti dal Ministero dell'Ambiente del Governo Italiano.

End point secondari:

- Caratteristiche cliniche dei pazienti con carcinoma del surrene, distinti in base al rischio ambientale dell'area di provenienza;
- Caratteristiche biochimiche dei pazienti con carcinoma del surrene, distinti in base al rischio ambientale dell'area di provenienza;
- Caratteristiche anatomopatologiche dei carcinomi del surrene nei pazienti distinti in base al rischio ambientale dell'area di provenienza;
- Individuazione delle varianti di geni coinvolti in pathway di detossificazione e correlazione con l'espressione clinica del carcinoma del surrene, anche in relazione al rischio ambientale dell'area di provenienza;
- Individuazione di fattori epigenetici correlati alla espressione clinica, biochimica o anatomopatologica dei carcinomi del surrene;
- Individuazione di fattori genetici e epigenetici correlati alla differente risposta alla terapia adrenolitica.

## **METODOLOGIE E ANALISI STATISTICHE**

La **popolazione di studio** sarà costituita da pazienti con diagnosi accertata di carcinoma surrenale in follow-up/terapia e pazienti di nuova diagnosi. Saranno istituite banche di tessuti (siero, DNA) e un database anonimo computerizzato. Nel database saranno raccolti i dati clinico-anamnestici, biochimici, radiologici e anatomopatologici.

**Analisi genetica:** la genotipizzazione di AhR, AIP, AR nuclear translocator (ARNT) and AhR repressor (AhRR) sarà eseguita su leucociti di sangue periferico e su tessuto tumorale tramite PCR e sequenziamento Sanger.

***Studi epigenetici:***

Saranno eseguiti studi sulla metilazione e deacetilazione del genoma su DNA derivante da carcinomi surrenali.