

An aerial photograph of the Po River delta, showing the river branching out into a complex network of channels and distributaries, surrounded by green agricultural fields and some urban areas in the distance.

“Gli interferenti endocrini nell’ecosistema Po”

Luigi VIGANO’

Istituto di Ricerca sulle Acque (IRSA – CNR)

Brugherio (MILANO)

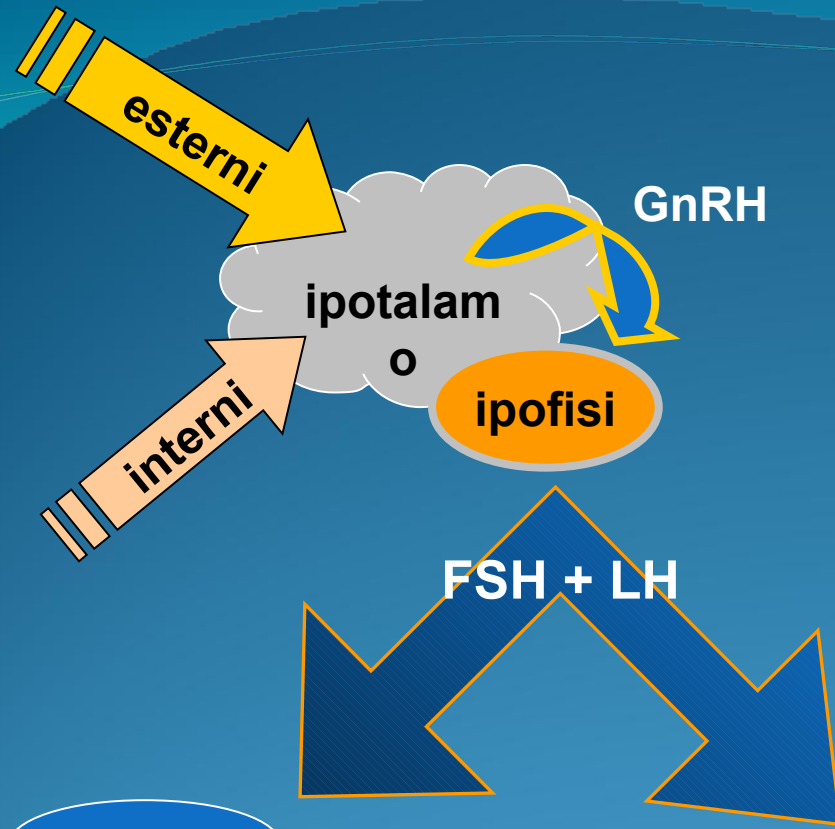


Il sistema endocrino è un *insieme* di ghiandole e tessuti che secernono nel sangue un'ampia serie di messaggeri chimici (ormoni) che interagendo con i recettori delle cellule negli organi bersaglio controllano sostanzialmente tutti i processi vitali di un organismo, quali: l'accrescimento, lo sviluppo, il metabolismo, l'immunità e la riproduzione

**Il sistema endocrino è strettamente integrato con il sistema nervoso centrale: è, di fatto, un sistema
*neuro-endocrino***

Il controllo della riproduzione si attua attraverso l'encefalo (regione ipotalamica), la ghiandola pituitaria e le gonadi

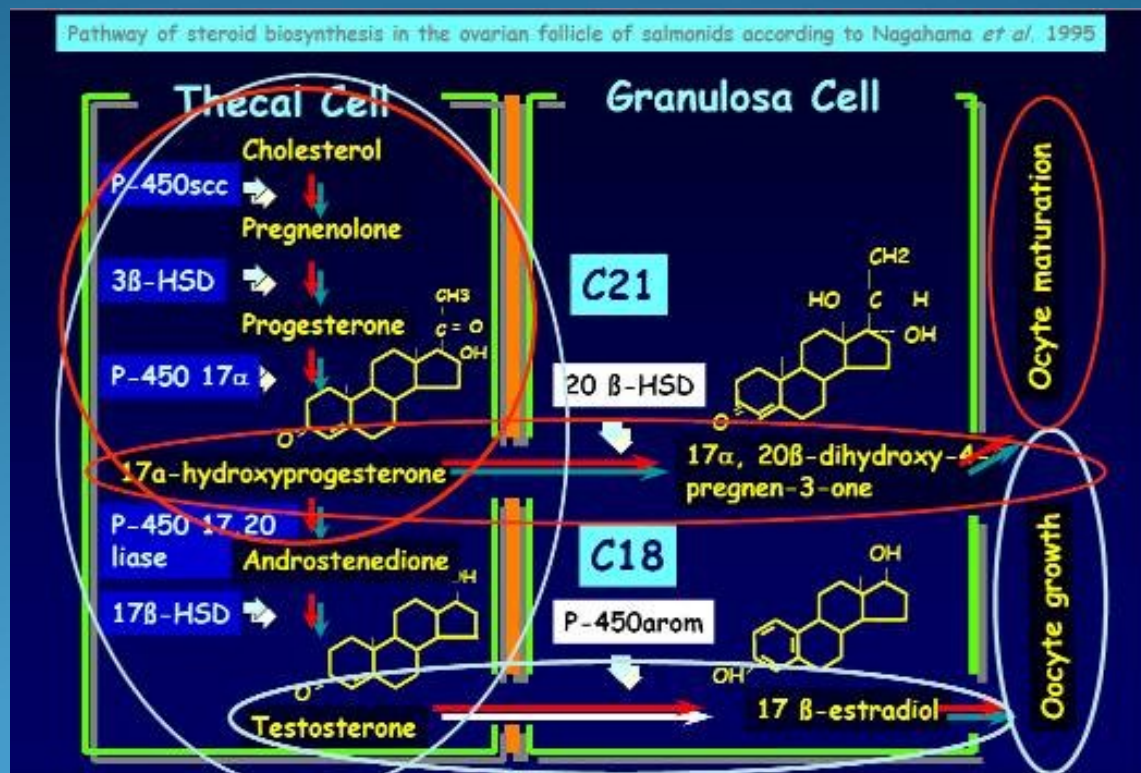
Le specie sono moltissime (molte migliaia) e le differenze talvolta sostanziali in ogni caso...



Nei Teleostei, stimoli esterni (temperatura, fotoperiodo, olfattivi, disponibilità di cibo etc.) ed interni (metabolismo, ormoni gonadici etc.) attivano nell'encefalo la sintesi di GnRH (gonadotropin releasing hormone) che a sua volta attiva nell'ipofisi la produzione delle gonadotropine (FSH e LH). Esse sono responsabili della steroidogenesi (T, 11-KT, E2 etc.) e quindi, in ultima analisi degli eventi che portano alla produzione dei gameti (spermatozoi e oociti).

In summary reproductive activity is controlled by the sequential participation of hormones and a complex cascade of events along the brain-pituitary-gonadal axis.

Elementi comuni: passiamo da cellule diploidi spermatogoni (o oogoni) il cui numero è incrementato mediante divisioni mitotiche, a queste segue una fase di divisioni meiotiche e poi la completa differenziazione dei gameti. Tutto avviene sotto il controllo di FSH e LH e con l'assistenza di cellule somatiche specializzate

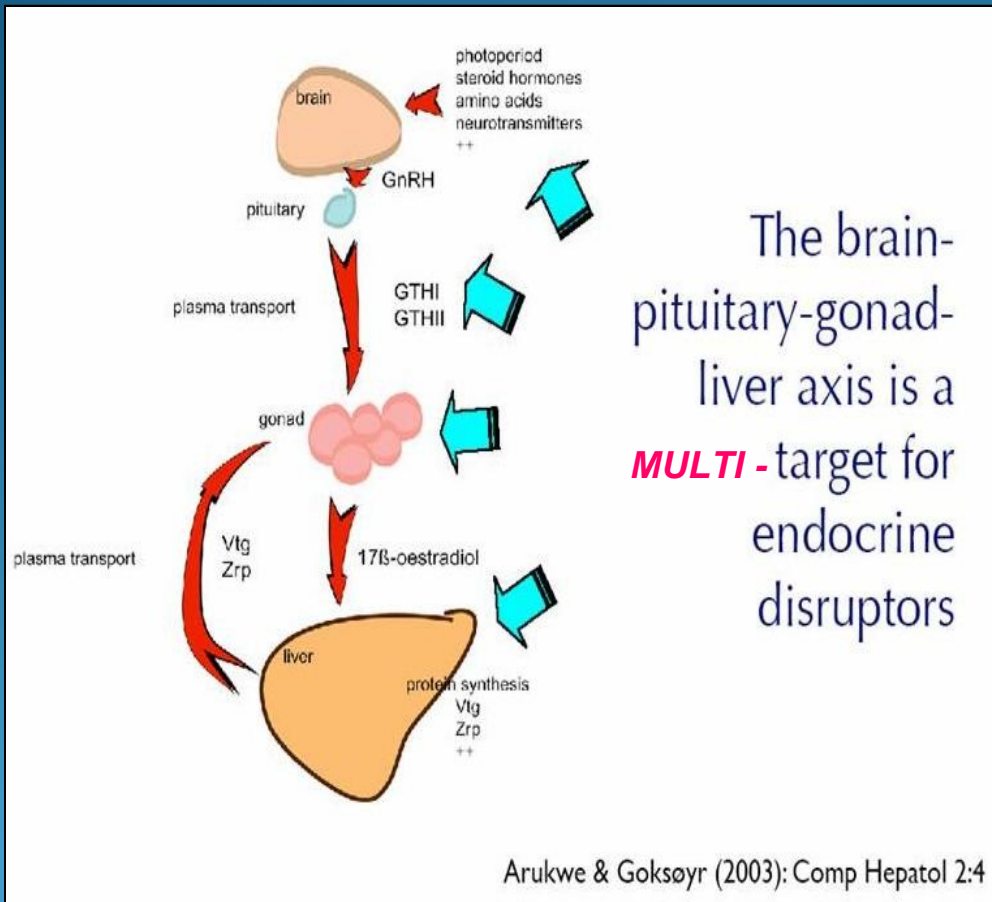


Zanuy, 2007

Gonadotropin does not act directly on germ cells, but rather through the gonadal synthesis of androgens. It stimulates production and secretion of the fish androgen (**11-KT**) from Leydig cells, which, in turn, activates Sertoli cells to stimulate premitotic spermatogonia and the complete process of spermatogenesis in the fish

Quali le possibili interferenze?

**Sintesi dell'ormone → trasporto → interazione con i recettori
→ inattivazione/escrezione**



Disrupt production, transport or excretion of natural hormones

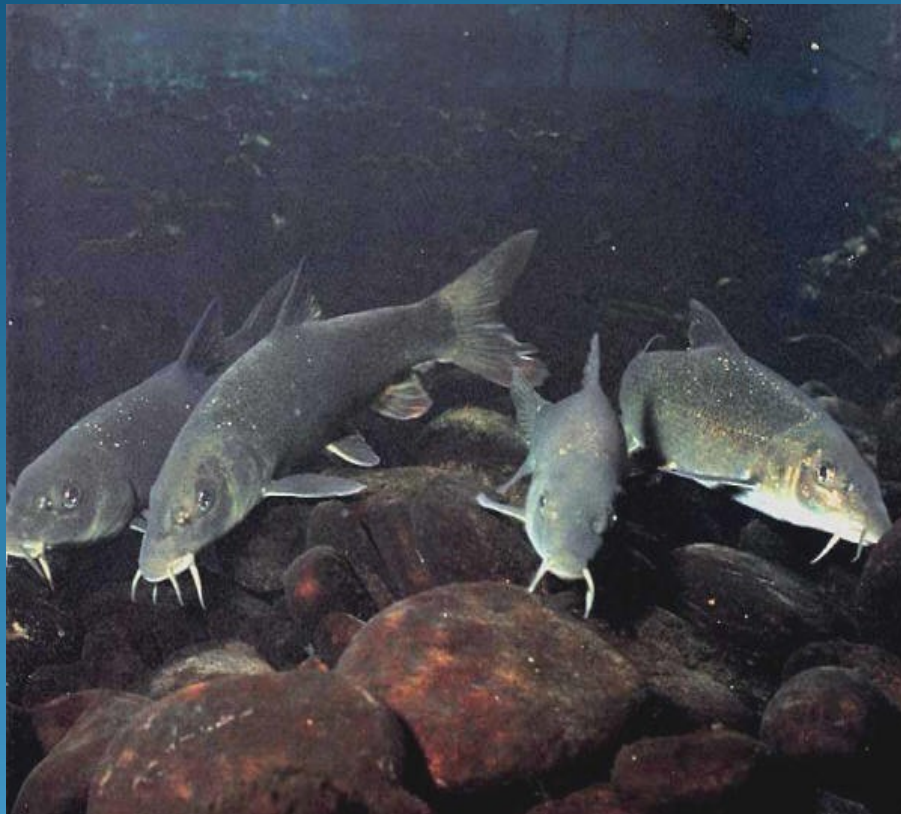
Hormone mimics: → AR or ER

Disrupt production/function of hormone receptors

... Often, several contemporary effects can be observed, and different alteration patterns are determined by graded concentrations of EDs!

Stessi recettori: Es. sintesi VTG (ER)

Nel Fiume Po



Viganò et al. (2001) Sci. Total Environ.

- Il 50% di un campione di barbi adulti (29-52 cm) catturati nel fiume Po ha gonadi intersessuali.
- Ciò si traduce nel fatto che il 90% dei maschi di tale campione mostra una femminilizzazione più o meno estesa delle gonadi: dal 50% a più del 90% del testicolo è occupato da tessuto ovarico



Naturali, ormoni animali + fitoestrogeni:

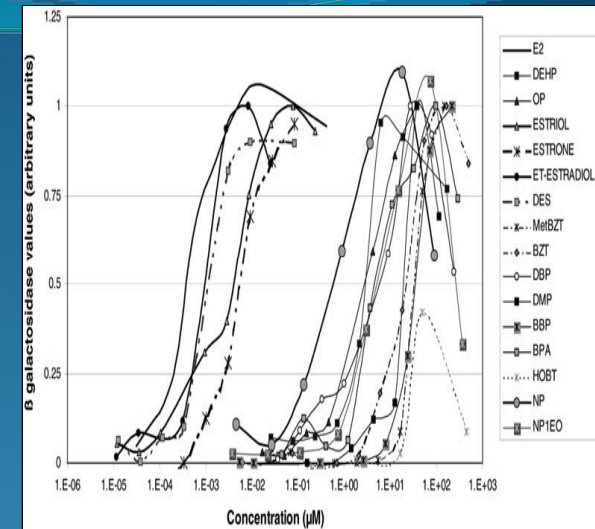
- E1, E2, E3, genisteina, etc

Molecole di sintesi* e prodotti di degradazione:

- farmaci (EE2 ↑ER)
- prodotti per la cura personale (triclosan, filtri UV*, profumazioni *musks**)
- detergenti (OP; NP e APEOn ↑ER)
- plastificanti (bisfenolo A (BPA), ftalati (DEP, DBP) ↑ER)
- intermedi di sintesi (perfluorurati, PFOA ↑ER)
- ritardanti di fiamma (PBDEs)
- pesticidi (DDTs (*op*DDE ↑ER; *pp*DDE ↓AR);
atrazina ↑CYP19; procimidone ↓AR; vinclozolin ↓AR ...)
- PCBs ↑↓ER e aggiungiamo PAHs, PCDDs
-

*impieghi molto eterogenei (often high production
volume: > 1000 t/y)

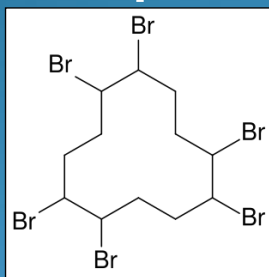
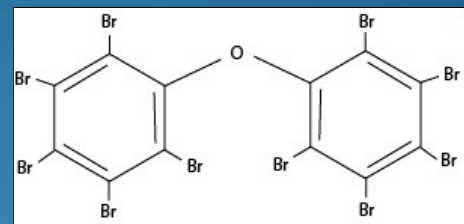
Potenze e conc. molto diverse ...



Cespedes et al., 2004

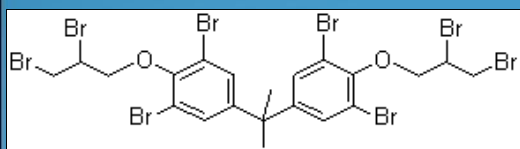
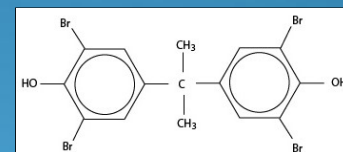
1. Contaminazione da polibromodifenileteri e altri ritardanti di fiamma

I PBDE e in generale i BFRs, sono utilizzati come additivi in cavi elettrici, prodotti a base di poliuretano e polistirene, e quindi nell'edilizia, nelle plastiche di computer, televisori, autoveicoli

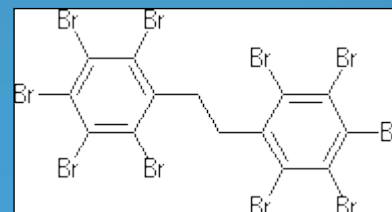


Esabromociclododecano ($\alpha+\beta+\gamma$ HBCD)

Tetrabromobisfenolo (TBBPA) (+ TCBPA)



Tetrabromobisfenolo – bis
Decabromodifeniletano (DBDPE)



PBDEs in juvenile cyprinids, benthic macroinvertebrates and sediments of the Po River

Bed sediments showed:

- diffuse contamination by penta-BDE technical mixture and high contents of BDE-209 up to 64 $\mu\text{g/g}$

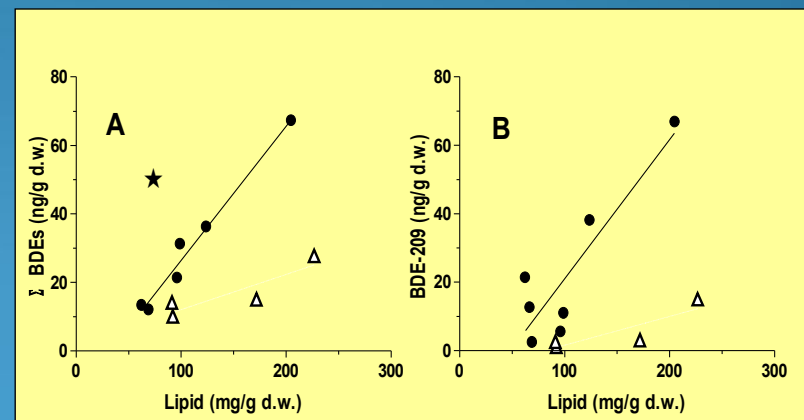
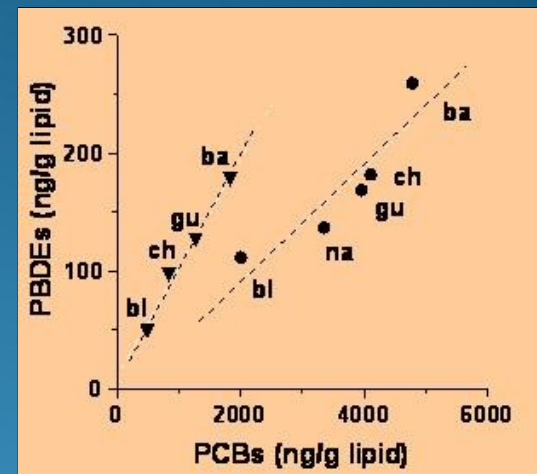


Fish showed:

- bioaccumulation of lower brominated BDEs (niche dependent)

Invertebrates:

- lower brominated BDEs and BDE-209

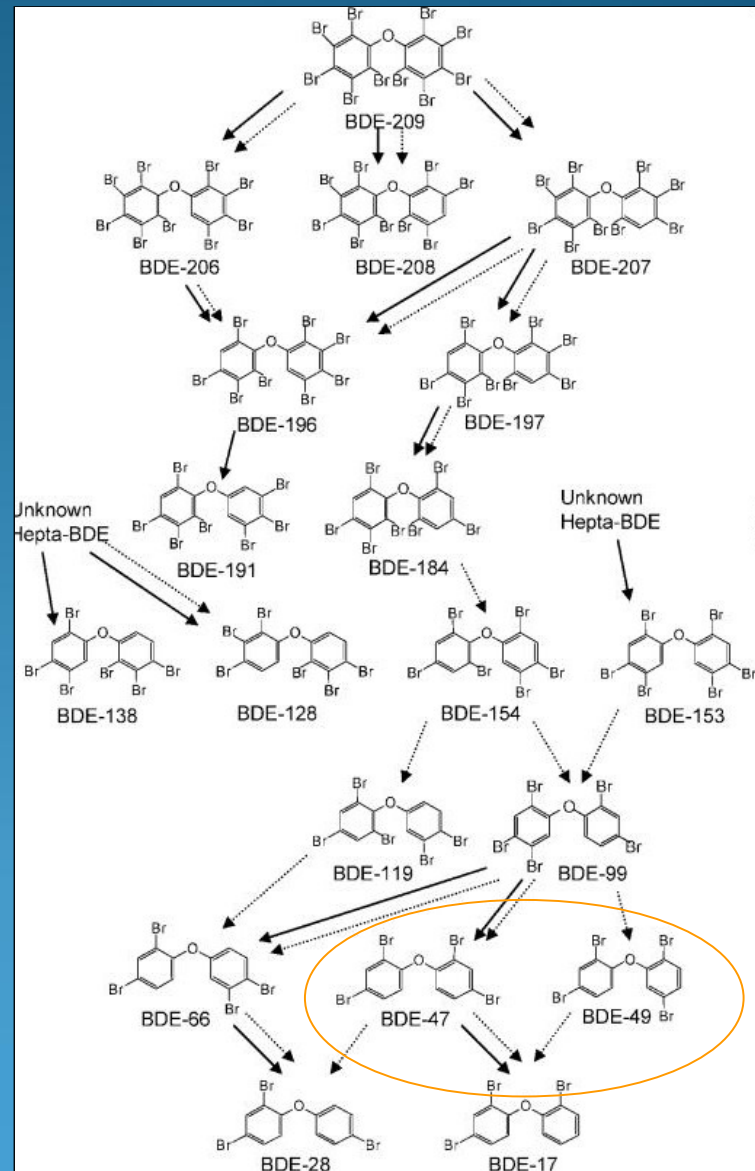


Viganò et al. (2008) Arch Environ Contam Toxicol

Viganò et al. (2009) Bull Environ Contam Toxicol

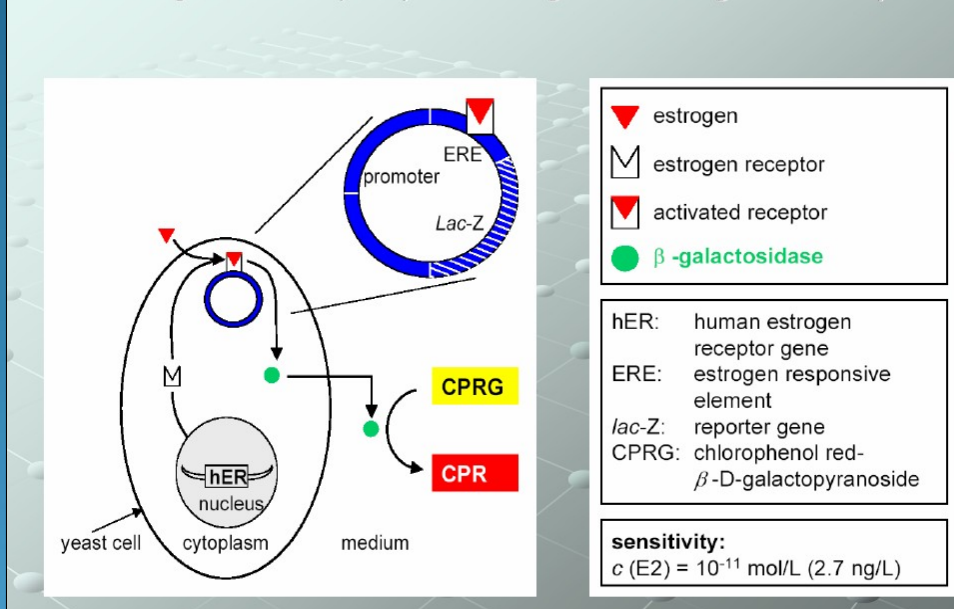
Perché siamo
interessati alla
contaminazione da
PBDE e in
particolare da
BDE-209 ?

BDE-19, BDE-47, BDE-49,
BDE-100, potenti anti-AR



2. Saggi *in vitro* per la ricerca di effetti ormono-simili

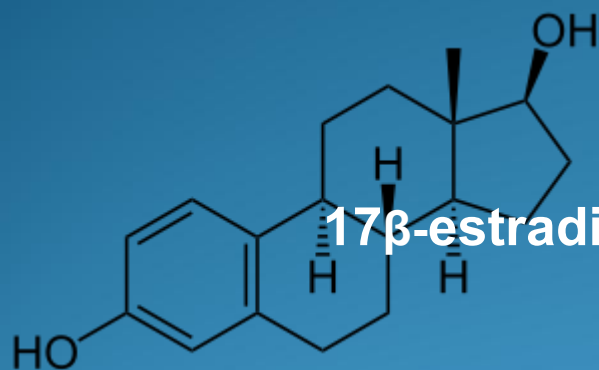
Yeast Estrogen Screen (YES) According to Routledge and Sumpter¹



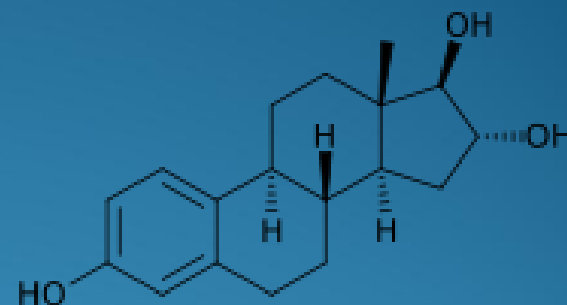
Cellule di lievito ricombinante nel cui genoma è stato inserito il ER umano

Attenzione per effetti anti-androgenici che saranno studiati con un lievito ricombinante contenente il AR

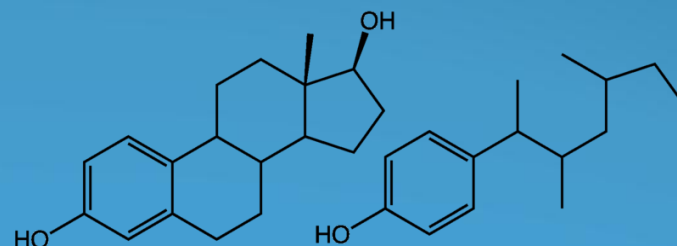
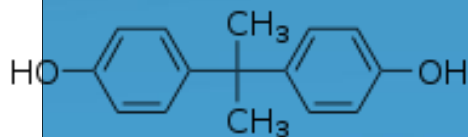
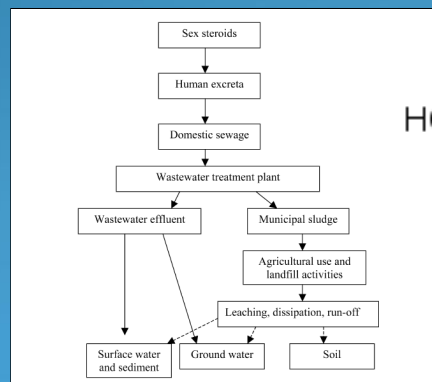
3. Contaminazione da estrogeni naturali e xeno-estrogeni



17 β -estradiolo (E2), estrone (E1), estriolo (E3),
etinilestradiolo (EE2),



nonilfenolo (NP), octilfenolo (OP), alchilfenoli etossilati
(APEOn), bisfenolo A (BPA), perfluorurati (PFOA)



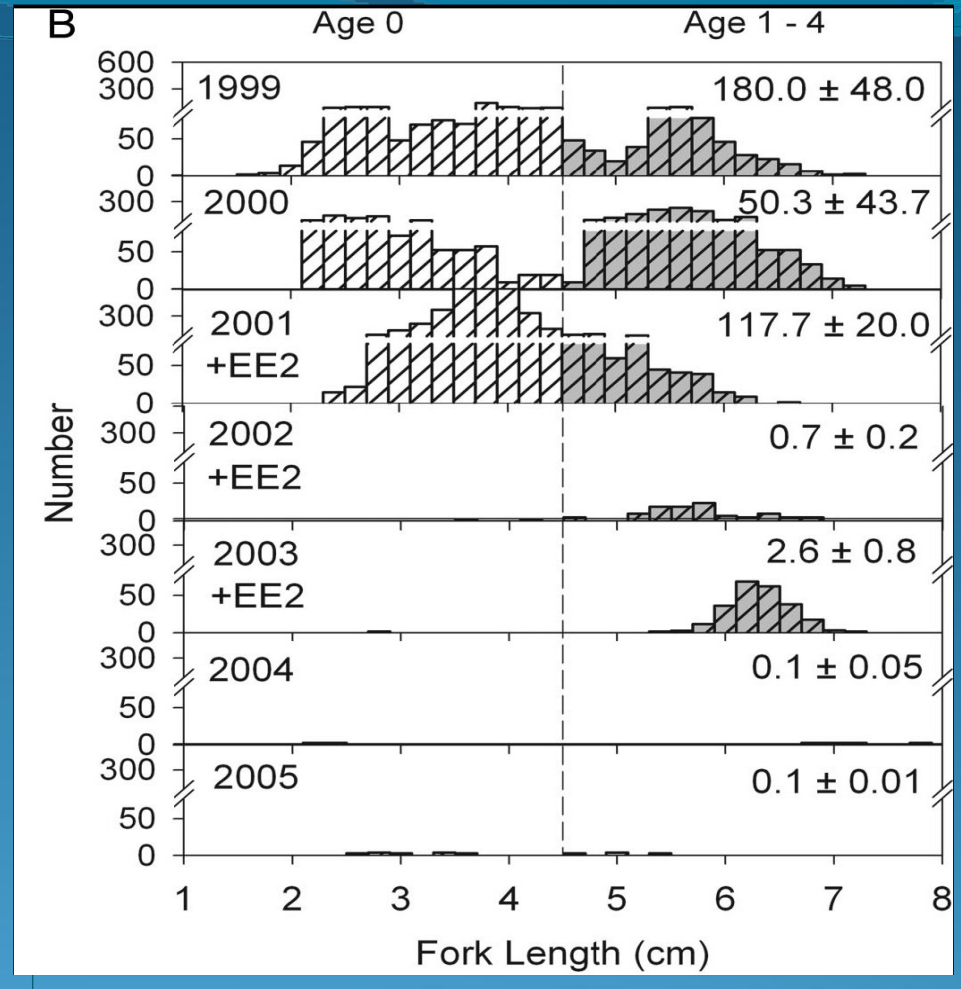
Perché ricercare questi interferenti ?

IN LABORATORIO

- **Larve (40 dph) di carpa esposte per 5 mesi alla miscela equivalente [1x] di un tributario del Po**
- **Intersex, aumento della VTG, cambiamenti del pattern ormonale, sex ratio etc.**



etinilestradiolo (EE2)
5-6 ng/L in a whole lake
study in the Experimental
Lake Area in Ontario,
Canada



K. Kidd et al., 2007, PNAS

4. Sperimentazione con pesci in laboratorio e
in campo

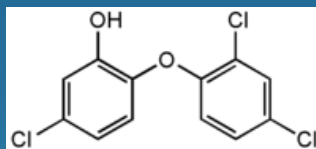
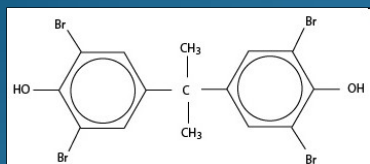
5. Andamento temporale di alcuni interferenti endocrini

Per molti EDs abbiamo informazioni scarse e frammentarie o più spesso nulle. La mancanza di informazioni complete e aggiornate rende molto difficile se non impossibile la ricostruzione delle

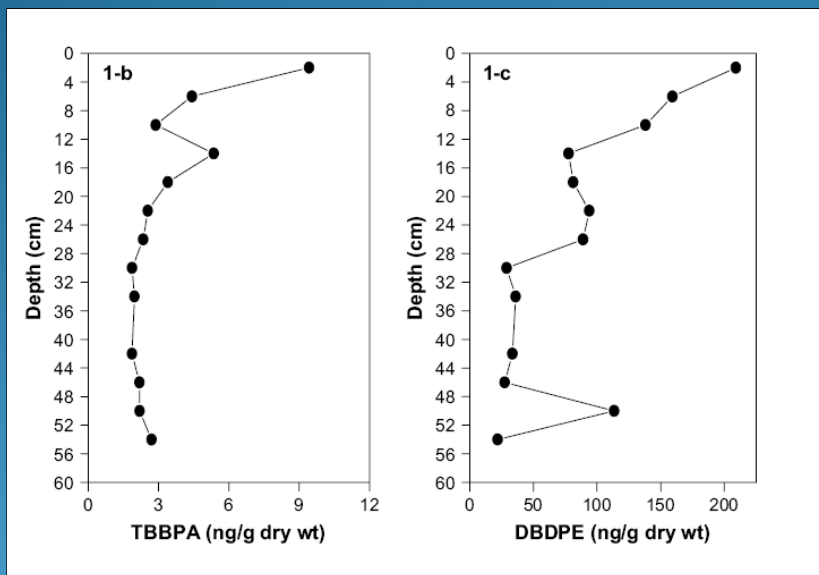
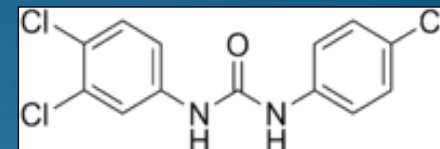
CAUSE DI DEGRADO DELL'ECOSISTEMA

I cambiamenti sono imputabili agli inquinanti tossici, agli effetti dei nutrienti

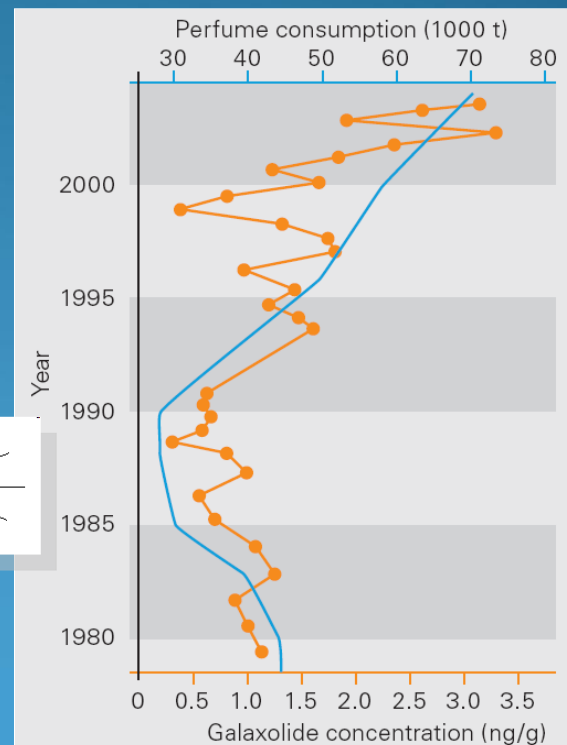
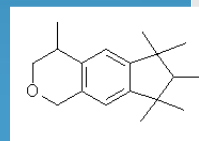
6. Ricerca di “personal care products”



Triclosan
Triclocarban
Benzofenoni
Galaxolide
Tonalide



Zhang et al., 2009, Env Poll



Peck et al., 2006 EST

7. Ruolo dei prodotti fitosanitari quali interferenti endocrini

ERBICIDI

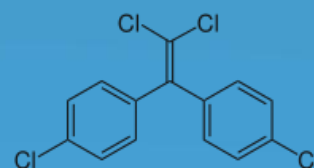
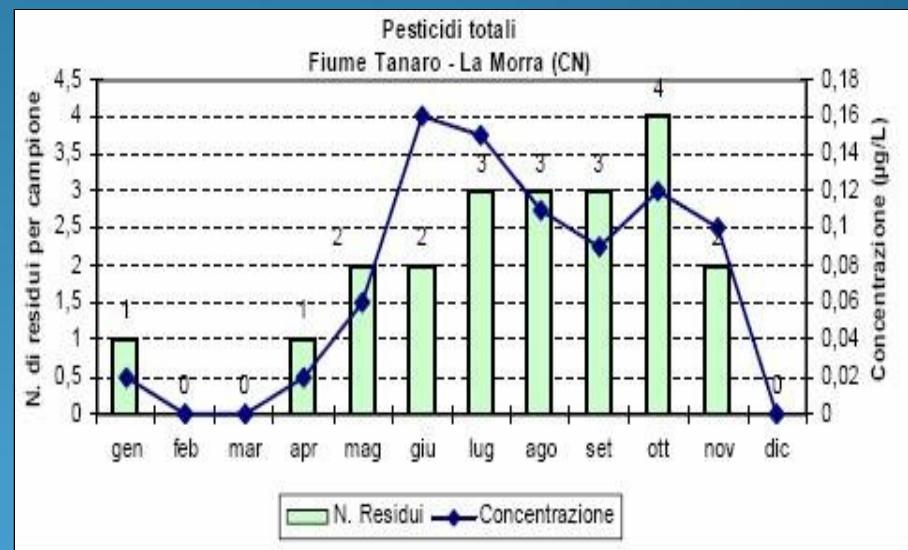
Atrazina, simazina (\uparrow CYP19), terbutilazina, metolaclor, oxadiazon (CYP19 \uparrow), linuron, 3,4-dicloroanilina (\downarrow AR + diuron), 2,4 D (\uparrow Vtg, \uparrow ER?), trifluralin

FUNGICIDI

Procimidone (\downarrow AR)
propiconazolo (\downarrow CYP19)

INSETTICIDI

Carbofuran, diazinone, dimetoato, endosulfan,DDTs + “*invisibili*”



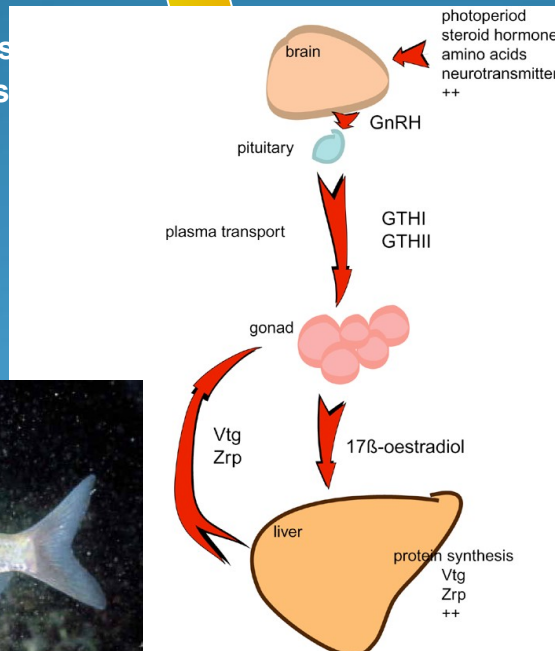
p,p' DDE

Se i pesticidi hanno una stagionalità (parents and larvae) gli altri EDs sono continui

- Estrone (E1)
- Estradiol (E2)
- Estriol (E3)
- Etinilestradiol (EE2)
- APs (nonilphenol + NPEOn;
octilphenol + OPEOn)
- Bisphenol A (BPA)
- Polibrominated diphenyl ethers
PBDEs
- Perfluorinated (PFs)
- Poliaromatic hydrocarbons PAHs
- Polychlorinated biphenyls (PCBs)
- Pesticides
-

agonist

antagonist



- Gonadal histopathologies, both in ovaries and testis
- Low quality and quantity of sperm and eggs
- Altered sex ratio

Reduction of
long-term viability
of fish
populations!