

Consuntivo progetti RC 2006-2008

S.S. Cancerogenesi Ambientale

Biomarcatori di genotossicità nella valutazione dell'impatto degli inquinanti cancerogeni nell'ambiente marino

Linea di ricerca: 1 - Oncologia Predittiva

Programma: a - Fattori di rischio esogeni ed endogeni e loro eventuali interazioni

Responsabile: Claudia Bolognesi

Partecipanti: Paola Roggieri, Andrea Sciutto

Durata: 2006-2008

Parole chiave: bioindicatori; biomarcatori; genotossicità; danno ossidativo; danno cromosomico

Altri Enti coinvolti: ARPA Liguria, Autorità Portuale, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, Protezione Civile

Tipologia progetto: preclinica

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Soggetti cofinanziatori: ARPA Liguria, Autorità Portuale, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, Protezione Civile

Background

L'inquinamento locale e diffuso delle acque è stato correlato direttamente o indirettamente ad alterazioni su larga scala delle popolazioni di organismi acquatici. Gli effetti indotti dall'esposizione sono rilevabili in progressione temporale ai vari livelli di organizzazione biologica, dall'alterazione dei parametri biochimici e fisiologici, a difetti funzionali, lesioni neoplastiche, malformazioni, riduzione della fertilità, della vitalità, alterazione delle popolazioni. Il monitoraggio ambientale mediante analisi chimiche dirette dell'acqua e dei sedimenti è limitato dalla disponibilità e dalla sensibilità dei metodi di rilevamento e dall'incapacità di predire gli effetti di misture complesse. Il monitoraggio degli effetti precoci, biochimici, fisiologici, genetici (biomarcatori) in organismi sentinella (bioindicatori) permette di determinare la biodisponibilità ed il bioaccumulo degli inquinanti, fornendo una risposta integrata degli ecosistemi acquatici ai fattori di stress ambientale. Gli effetti genotossici, alterazioni dell'integrità del DNA e quindi danno cromosomico espresso dopo la replicazione cellulare, rappresentano gli eventi primari della risposta degli animali all'esposizione ad agenti cancerogeni. Differenti biomarcatori di genotossicità sono stati determinati nei vertebrati ed invertebrati marini, ma solo un numero limitato di questi sono stati validati sul campo e sono stati applicati su larga scala negli studi di monitoraggio.

Molti metalli pesanti, quali il mercurio, il cromo, il cadmio, il piombo sono tra gli inquinanti più rilevanti dell'ambiente acquatico per la loro capacità di accumularsi e per i loro effetti tossici sugli organismi che includono effetti cancerogeni e teratogeni. Lo sviluppo di biomarcatori specifici per l'esposizione ai metalli sono quindi di particolare rilevanza per il monitoraggio marino costiero. Il meccanismo dell'attività tossica e genotossica dei metalli è mediata dall'induzione di stress ossidativo coinvolgente principalmente i lisosomi ed i mitocondri che porta ad una ossidazione delle macromolecole biologiche, lipidi, proteine e DNA. E' stata altresì osservata una alterazione dell'integrità delle fibre di actina ed in minor modo dei microtubuli, effetto che interferisce anche con la corretta divisione dei cromosomi in fase di mitosi inducendo fenomeni di aneuploidia. La valutazione delle principali componenti del sistema antiossidante, la superossido dismutasi, la catalasi, la glutatione perossidasi, la determinazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e della perossidazione lipidica, e la determinazione della frequenza di micronuclei come indice di danno cromosomico, possono costituire biomarcatori rispettivamente degli effetti immediati ed integrati nel tempo dell'esposizione a metalli.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari:

Obiettivo generale:

Sviluppare e validare metodologie di identificazione di agenti cancerogeni e mutageni nell'ambiente con particolare riferimento all'ambiente acquatico.

In particolare:

Determinazione della sensibilità delle specie sentinella per determinare la biodisponibilità ed il bioaccumulo degli inquinanti nel monitoraggio di aree costiere o di zone interessate da contaminazioni specifiche.

Validazione di biomarcatori specifici per l'esposizione ai metalli, con particolare riferimento al cromo.

Valutazione della potenziale genotossicità di matrici ambientali (elutriati di sedimenti, estratti acquosi, omogenati di organismi) su sistemi in vitro.

Beneficiari

Enti locali nell'attuazione di misure di riduzione dei composti tossici nell'ambiente e soprattutto nel monitoraggio delle procedure di bonifica.

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

E' stato condotto uno studio di biomonitoraggio con mitili stanziali nel golfo di Oristano in Sardegna in tre aree caratterizzate dall'inquinamento da metalli pesanti, quali piombo, cadmio e zinco e da pesticidi, ed in un'area di controllo. Lo studio che prevedeva quattro diversi campionamenti nell'arco di un anno utilizzando biomarcatori di genotossicità, quali la frequenza di micronuclei e l'entità di danno al DNA in associazione alla determinazione dell'attività dell'acetilcolinesterasi, ha rivelato un incremento dei parametri secondo un gradiente di inquinamento determinato mediante le analisi chimiche dei sedimenti delle aree considerate.

Uno studio sperimentale per la standardizzazione e la determinazione del valore predittivo del test del micronucleo negli eritrociti di pesce, come biomarcatore di esposizione ed accumulo è stato condotto in acquario mediante il trattamento di pesci della specie *Scophthalmus maximus* ad alcuni inquinanti, quali dialchilftalato, bisfenolo A, tetrabromodifeniletere, nonilfenolo e miscele di inquinanti. Lo studio ha rivelato un incremento temporale della frequenza di micronuclei, con particolare riferimento alle miscele, dimostrandosi un buon indicatore per le esposizioni cumulative.

Un approccio integrato di biomonitoraggio con l'utilizzo di diversi bioindicatori, pesci, mitili, ostriche, caratterizzati da differenti habitat, è stato applicato per valutare il potenziale rischio ambientale indotto dal rilascio di composti chimici, quali idrocarburi policiclici aromatici (PAH) e policlorobifenili dal relitto della petroliera Haven affondata al largo di Arenzano nell'aprile 1991. I mitili stabulati e pesci stanziali delle specie *Mullus barbatus*, *Boops boops* e *Uranoscopus scaber* sono stati utilizzati per la determinazione dell'impatto sulle aree costiere, mentre le ostriche, sia stanziali che stabulate sono state considerate in differenti aree all'interno del relitto. I risultati ottenuti, confermando la validità del modello Mussel Watch nella determinazione dell'inquinamento nelle aree costiere, rivelano un miglioramento del livello di stress degli animali a partire dai primi campionamenti subito successivi all'incidente fino ad oggi, in correlazione con i dati della analisi chimiche di PAH. Le analisi eseguite nei pesci rivelano un incremento della sindrome di stress dagli animali di acque più superficiali fino alle specie quali *Uranoscopus scaber* che colonizzano i fondali, dove l'accumulo degli inquinanti implica ancora esposizioni significative. Le ostriche si sono rivelate come biomarcatori adeguati alla valutazione del rilascio e della diffusione degli inquinanti all'interno del relitto, permettendo di verificare gli effetti indotti dalle procedure di prospezione e di bonifica.

E' stata validata una batteria di biomarcatori per la determinazione del danno ossidativo: valutazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e analisi dei principali componenti del sistema antiossidante, attraverso la determinazione di attività enzimatiche quali superossido dismutasi, catalasi, glutatione-perossidasi. Tali biomarcatori in associazione a quelli di danno al DNA (eluizione alcalina ed unwinding fluorimetrico) e danno cromosomico (test del micronucleo) sono stati applicati ad organismi indicatori, quali pesci stanziali appartenenti ai generi *Mullus*, *Sarpa* e mitili stabulati per un periodo di 28 giorni secondo il modello Mussel Watch, per la determinazione dell'inquinamento da cromo e del suo impatto sugli ecosistemi nel sito di bonifica di interesse nazionale Cogoleto-Stoppani. Lo studio di biomonitoraggio ha evidenziato un incremento significativo dei parametri associati all'inquinamento da cromo, confermando la validità dell'applicazione dei biomarcatori per controlli ambientali periodici.

E' stato messo a punto un modello di valutazione in vitro della tossicità e genotossicità dei sedimenti, utilizzando una linea di cellule da carcinoma epatocellulare umano: HepG-2, metabolicamente competente e quindi sensibile ai trattamenti con composti tossici e genotossici. Sono stati applicati: a) biomarcatori di tossicità, quali valutazione della proliferazione cellulare, in termini di numero di cellule e capacità di formare colonie e determinazione della vitalità cellulare mediante biomarcatori di membrane; b) determinazione delle specie reattive dell'ossigeno; c) attività enzimatiche antiossidanti; d) biomarcatori di danno genotossico. Questo sistema ha permesso di classificare per livello di tossicità i campioni di sedimento prelevati da diverse aree nel sito di bonifica Cogoleto Stoppani.

Elenco pubblicazioni:

Bolognesi C.-Perrone E.-Roggieri P.-Pampanin D.-Sciutto A.

Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions.

Aquat. Toxicol. 78(suppl):S93/S98, 2006

Bolognesi C.-Perrone E.-Roggieri P.-Sciutto A.

Bioindicators in monitoring long term genotoxic impact of oil spill: Haven case study.

Mar. Environ. Res. 62:S287/S291, 2006

Magni P.-De Falco G.-Falugi C.-Franzoni M.-Monteverde M.-Perrone E.-Sgro M.-Bolognesi C.

Genotoxicity biomarkers and acetylcholinesterase activity in natural populations of *Mytilus galloprovincialis* along a pollution gradient in the gulf of Oristano (Sardinia, western Mediterranean).

Environ. Pollut. 142:65/72, 2006

Viarengo A.-Dondero F.-Pampanin D.-Fabbri R.-Poggi E.-Malizia M.-Bolognesi C.-Perrone E.-Gollo E.-Cossa G.

A biomonitoring study assessing the residual biological effects of pollution caused by the HAVEN wreck on marine organisms in the Ligurian sea (Italy).

Arch. Environ. Contam. Toxicol. 53:607/616, 2007

Viarengo A.-Lowe D.-Bolognesi C.-Fabbri E.-Koehler A.

The use of biomarkers in biomonitoring: a 2 tier approach assessing the level of pollutant induced stress syndrome in sentinel organisms.

Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 146:281/300, 2007

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Applicazione di biomarcatori di genotossicità, danno al DNA e danno cromosomico, nel monitoraggio di popolazioni umane a rischio con particolare riferimento a condizioni eredo-familiari

Linea di ricerca: 1 - Oncologia Predittiva

Programma: b - Biomarcatori biologici e molecolari di esposizione, di danno al DNA e di rischio di cancro

Responsabile: Claudia Bolognesi

Partecipanti: Paola Roggieri, Andrea Sciutto, Samantha Volpi

Durata: 2006-2008

Parole chiave: biomarcatori; genotossicità; suscettibilità individuale; danno al DNA; test del micronucleo; Comet assay

Altre strutture IST: S.C. Epidemiologia Clinica (P. Bruzzi); S.S. Centro Tumori Ereditari (L. Varesco); S.C. Epidemiologia e Biostatistica (R. Filiberti)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Background

I pazienti affetti da neoplasie o da malattie cronic-degenerative presentano instabilità genomica associata ad alterazione dei meccanismi di difesa cellulari, quali i sistemi di riparo del DNA. Le cellule con queste alterazioni acquistano un'ipersensibilità agli agenti mutageni, rivelabile in termini di danno al DNA o danno cromosomico, mediante challenge in vitro su linfociti di sangue periferico. Gli studi ad oggi disponibili dimostrano che la sensibilità ai mutageni è ereditabile e rappresenta un fattore di rischio indipendente da altri quali quelli demografici od ambientali. Nostri studi hanno dimostrato incrementi significativi nella frequenza basale di micronuclei nei linfociti di pazienti affetti da mesotelioma, rispetto a soggetti sani.

Il test del micronucleo è stato applicato in linfociti di sangue periferico di pazienti con tumore alla mammella, sia in condizioni basali che dopo challenge, per verificarne il potenziale valore predittivo nel rilevare predisposizioni genetiche, quali la mutazione dei geni BRCA1 e BRCA2. I risultati disponibili sono contraddittori ed incompleti ma suggeriscono una potenziale applicazione del test come biomarcatore di suscettibilità al tumore alla mammella, ma non necessariamente associato a mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2. La presenza di mutazioni a carico di questi geni ad alta penetranza infatti non spiega l'entità della predisposizione familiare per il tumore alla mammella.

Dati di letteratura indicano che l'eziologia di una malattia cronic-degenerativa come la cataratta possa essere attribuita ad un danno ossidativo a carico del DNA e delle proteine del cristallino. Elevate frequenze di micronuclei sono state osservate in frammenti operatori di cataratta dimostrando un'instabilità genomica indipendente dall'età e dal sesso. Nostri dati preliminari hanno indicato frequenze di micronuclei più elevate nei linfociti di sangue periferico da pazienti con cataratta suggerendo la possibilità di utilizzare i linfociti come tessuto surrogato per valutare la suscettibilità al danno ossidativo nei pazienti con cataratta.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Obiettivo generale:

Valutazione della predittività del test di sensibilità ai mutageni nella determinazione della suscettibilità ai tumori ed alle malattie cronic-degenerative.

In particolare:

Valutazione della sensibilità e della predittività del test del micronucleo nel monitoraggio di pazienti con mesotelioma pleurico e loro famigliari rispetto a controlli sani ed a soggetti con affezioni polmonari benigne esposti o no ad asbesto.

Verifica del potenziale valore predittivo del test del micronucleo nel rilevare predisposizioni genetiche, quali ad esempio la mutazione di geni ad alta penetranza BRCA1 e BRCA2.

Determinazione del ruolo della suscettibilità individuale al danno genotossico, in particolare al danno ossidativo, nell'eziologia della cataratta.

Beneficiari

Potenzialità di utilizzo dei biomarcatori di genotossicità per il monitoraggio di soggetti a rischio.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

Nell'ambito del progetto mesotelioma sono stati raccolti complessivamente 300 campioni di sangue da pazienti con mesotelioma pleurico, con neoplasie polmonari, con affezioni polmonari benigne e da soggetti sani che sono stati processati per la determinazione della frequenza basale di micronuclei e per la valutazione della sensibilità ai mutageni mediante challenge in vitro con radiazioni ionizzanti (1 e 2 Gy) e bleomicina. E' in fase di completamento ad oggi la determinazione delle frequenze basali. L'analisi di tali risultati potrà confermare i risultati preliminari ottenuti e verificare le potenziali associazioni con l'esposizione ad asbesto. Sono in fase di analisi i preparati relativi ai diversi tipi di challenge..

Nell'ambito della valutazione della predittività del test del micronucleo per il tumore alla mammella, sono stati raccolti dal Centro Tumori Ereditari IST 150 campioni di sangue periferico da pazienti con tumore alla mammella e loro familiari portatori di mutazioni BRCA1/2 o che abbiano espresso il consenso al test genetico. Tali campioni sono stati processati per la determinazione della frequenza basale di micronuclei e della suscettibilità ai mutageni mediante

Consuntivo progetti RC 2006-2008

challenge in vitro con bleomicina e con radiazioni ionizzanti ad 1 Gy e 2 Gy. I preparati sono ad oggi in fase di valutazione.

Un'analisi preliminare su un campione di 56 pazienti indica che il 60% di questi soggetti mostrano un incremento della frequenza basale (> 10 cellule micronucleate/1000 linfociti binucleati), mentre l'85 % un'aumentata frequenza (> 60 cellule micronucleate/1000 linfociti binucleati) dopo challenge con radiazioni ionizzanti alla dose di 1 Gy.

Nell'ambito dello studio sul ruolo della suscettibilità genetica nell'origine della cataratta, sono stati raccolti campioni di sangue periferico da pazienti con cataratta e da soggetti di controllo. Tali campioni sono stati processati per la valutazione della frequenza di micronuclei, quale indice di danno cromosomico e per la determinazione del danno al DNA con il Comet assay, sia a livello basale sia dopo induzione di stress ossidativo mediante challenge con perossido di idrogeno.

Risultati preliminari ottenuti su 9 pazienti e 6 controlli mostrano un incremento del livello basale del danno al DNA dei linfociti di sangue periferico nei pazienti con cataratta rispetto ai controlli sani, sia in termini di danno primario, sia di danno ossidativo delle basi puriniche e pirimidiniche, mediante l'uso di enzimi specifici coinvolti nella riparazione di queste alterazioni, quali la formimidopirimidina DNA glicosilasi (fpg) e la endonucleasi III.(endo III). Si è altresì osservato, dopo trattamento in vitro con perossido di idrogeno, un incremento dell'indice di frammentazione del DNA, principalmente in termini di purine o pirimidine ossidate, maggiore nei pazienti rispetto ai controlli, indicando una maggior suscettibilità allo stress ossidativo.

Questi risultati suggeriscono l'uso dei linfociti di sangue periferico come tessuto surrogato per l'identificazione di soggetti a rischio per la cataratta. L'alta variabilità interindividuale, maggiore dopo lo stress ossidativo indica che il challenge con perossido di idrogeno aumenta il potere di discriminazione del test per l'identificazione dei pazienti suscettibili.

Elenco pubblicazioni:

Bonassi S.-Znaor A.-Ceppi M.-Lando C.-Chang W.-Holland N.-Kirsch M.-Zeiger E.-Ban S.-Barale R.-Bigatti M.-Bolognesi C.-Cebulska A.- Fabianova E.-Fucic A.-Hagmar L.-Joksic G.-Martelli A.-Migliore L.-Mirkova E.-Scarfi M.-Zijno A.-Norppa H.-Fenech M.

An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis 28:625/631, 2007

Sacca' S.C.-Bolognesi C.-Battistella A.-Izzotti A.
Gene-environment interaction in ocular diseases.
Mutat. Res. Epub Nov. 13, 2008

Validazione, standardizzazione ed applicazione di biomarcatori di genotossicità, danno al DNA e danno cromosomico, nel monitoraggio di popolazioni umane a rischio per esposizione ambientali e professionali

Linea di ricerca: 1 - Oncologia Predittiva

Programma: b - Biomarcatori biologici e molecolari di esposizione, di danno al DNA e di rischio di cancro

Responsabile: Claudia Bolognesi

Partecipanti: Paola Roggieri , Andrea Sciutto, Cristina Balia, Samantha Volpi

Durata: 2006-2008

Parole chiave: biomarcatori; genotossicità; suscettibilità individuale; danno al DNA; test del micronucleo; Comet assay

Altre strutture IST: S.C. Epidemiologia e Biostatistica (F. Merlo), S.S. Epidemiologia Molecolare (S. Bonassi)

Altri Enti coinvolti: Ministero della Salute, Ministero della Difesa

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Soggetti cofinanziatori: Ministero della Salute, Ministero della Difesa

Background

Differenti biomarcatori di genotossicità sono stati sviluppati ed applicati a differenti cellule target o surrogato con lo scopo di valutare potenziali rischi di esposizioni professionali od ambientali.

La validità dell'applicazione del test del micronucleo in cellule in divisione, linfociti da sangue periferico e cellule esfoliate, come indice di danno cromosomico è ampiamente confermata dalla letteratura. L'applicazione del test ai linfociti periferici coltivati in vitro con successivo blocco della citodieresi consente di considerare l'effetto di esposizioni recenti rispetto al prelievo. Il protocollo sperimentale è stato standardizzato ed ampiamente convalidato da un esercizio di intercalibrazione condotto a livello internazionale. L'attuale applicazione del test estesa alla valutazione di una serie di parametri citogenetici e cellulari, quali ponti nucleoplasmici, buds, apoptosi e necrosi, permette di differenziare effetti tossici da effetti genotossici. Le tecnologie di ibridazione in situ con sonde fluorescenti di DNA centromerico (FISH) consentono di determinare il meccanismo di formazione dei micronuclei (per frammentazione cromosomica o per disfunzioni del fuso mitotico).La determinazione della frequenza di micronuclei, rappresenta quindi

Consuntivo progetti RC 2006-2008

un biomarcatore di effetto precoce che in associazione a marcatori di esposizione consente di attuare strategie di prevenzione primaria. Il biomonitoraggio di popolazioni per le quali invece non è nota l'esposizione ad agenti nocivi, quali i militari impegnati in zone di guerra, può rivelare una situazione espositiva e costituire l'indicazione per la successiva individuazione dei fattori di rischio. Le cellule esfoliate della mucosa ottenute facilmente con metodi non invasivi hanno rappresentato una valida alternativa ai linfociti di sangue periferico nella determinazione della frequenza di micronuclei in popolazioni esposte in modo continuo ad agenti genotossici per via inalatoria o per il monitoraggio dell'efficacia di trattamenti di chemoprevenzione. Tuttavia la sensibilità e la predittività del test nelle sue diverse modalità di applicazione non è stata ad oggi determinata. E' inoltre necessaria una standardizzazione del protocollo ed un esercizio di intercalibrazione tra laboratori al fine di una comparabilità dei risultati.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Obiettivo generale:

Determinazione della sensibilità e del valore predittivo di biomarcatori di genotossicità, quali il test del micronucleo e la determinazione della frammentazione del DNA.

In particolare:

Test del micronucleo, nelle cellule esfoliate di mucosa orale, quale biomarcatore per esposizioni di tipo inalatorio o per popolazioni a rischio. Standardizzazione ed intercalibrazione della metodica nell'ambito del programma internazionale HUMN (The International Collaborative Project on Micronucleus Frequency in Human Populations).

Determinazione di danno al DNA in termini di rotture sulla singola elica e del danno cromosomico come frequenza di micronuclei, in popolazioni esposte a differenti dosaggi di benzene.

Applicazione del test del micronucleo come biomarcatore di danno genotossico per differenti tipologie di esposizione, ambientali e professionali:

- Determinazione del rischio associato alla potenziale esposizione dei soldati italiani in teatro di guerra in Iraq (progetto finanziato dal Ministero della Difesa)
- Biomonitoraggio di esposti a radiazioni ionizzanti in ambiente ospedaliero.
- Biomonitoraggio di esposti a pesticidi in agricoltura

Beneficiari

Popolazioni umane a rischio di esposizioni ambientali e professionali; attuazione di interventi di prevenzione primaria o di sorveglianza.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

L'applicazione del test del micronucleo associato alle tecnologie FISH mediante l'uso di sonde di DNA centromerico a colture di linfociti umani da donatori sani si è rivelato un sistema valido per lo studio del meccanismo di induzione del danno cromosomico di alcuni farmaci antitumorali della classe del cisplatino. I risultati ottenuti indicano differenti meccanismi d'azione: il cicloplatam ha attività clastogena, mentre il cisplatino ed il carboplatino inducono sia aberrazioni strutturali che numeriche.

Il test del micronucleo è stato applicato in vitro in associazione ad altri test di mutagenesi in colture di linfociti da sangue periferico da donatori sani al fine di determinare il potenziale genotossico di omologhi sintetici degli acidi nucleici.

E' stato effettuato uno studio di valutazione delle potenzialità di applicazione del test del micronucleo come biomarcatore dell'esposizione a basse dosi di radiazioni ionizzanti attraverso uno studio di monitoraggio di soggetti esposti in ambiente ospedaliero. Non è stata osservata alcuna differenza nella frequenza di micronuclei tra il gruppo di esposti e quello di controllo. Si è evidenziato però un trend di incremento, anche se non statisticamente significativo, sulla base dei livelli di esposizione. Non sono state osservate differenze neppure per quanto riguarda gli altri parametri nucleari rilevanti, quali i ponti nucleoplasmici. Si può quindi concludere che non esiste un rischio genotossico rilevante per il personale esposto a radiazioni ionizzanti se sono osservate le norme di protezione individuale. E' iniziato il progetto di definizione delle curve di calibrazione dose-effetto delle frequenze di micronuclei nei linfociti da sangue periferico, al fine di definire i limiti inferiori di rilevamento per questo biomarcatore, allo scopo di un utilizzo nella dosimetria biologica di esposizioni accidentali.

Nell'ambito del progetto SIGNUM organizzato dal Ministero della Difesa, che prevedeva il monitoraggio citogenetico di un gruppo di 1000 militari in due diversi campionamenti prima e dopo un periodo di missione in Iraq, sono stati raccolti e processati circa 900 campioni, per i quali sono state determinate le frequenze di micronuclei e di alterazioni nucleari e cellulari. I risultati ottenuti sono in fase di analisi, in associazione ad altri marcatori molecolari e di esposizione da parte dell'Unità di Epidemiologia e Statistica dell'Istituto Superiore di Sanità.

E' stato condotto uno studio di biomonitoraggio citogenetico in popolazioni soggette all'esposizione a glifosate durante programmi di distribuzione dell'erbicida per via aerea. I campioni di sangue periferico sono stati processati per la determinazione della frequenza di micronuclei e sono attualmente in stato di valutazione.

E' stata effettuata una revisione della letteratura scientifica relativa all'applicazione del test del micronucleo nelle cellule esfoliate di mucosa orale al fine di avviare uno studio di standardizzazione della metodica e di intercalibrazione tra laboratori. Scopi primari di questa revisione sono stati: l'identificazione delle principali lacune nella conoscenza sui meccanismi biologici di espressione dei micronuclei e delle altre anomalie nucleari nelle cellule esfoliate della mucosa orale e sui principali problemi metodologici da considerare nella standardizzazione del test.

Il test dell'eluzione alcalina per la determinazione della frammentazione del DNA è stato applicato al biomonitoraggio dell'esposizione ad alte dosi di benzene. Uno studio condotto su 208 soggetti comprendenti lavoratori di un'industria petrolchimica in Bulgaria e relativi controlli ha rivelato un incremento del danno al DNA riferito ai livelli di esposizione e significativamente associato alla frequenza di polimorfismi genetici del metabolismo del benzene.

E' stato effettuato uno studio di intercalibrazione e controllo per l'applicazione del test del micronucleo con il Dipartimento di Genetica dell'Istituto di Medicina occupazionale di Sosnowiec (Polonia) nell'ambito di uno studio condotto in lavoratori di una cokeria, esposti ad alti livelli di idrocarburi policiclici aromatici (PAH). I risultati dello studio hanno dimostrato un incremento della frequenza di micronuclei nei linfociti di sangue periferico associato alla

Consuntivo progetti RC 2006-2008

dose biologicamente efficace di PAH rivelata come frequenza di addotti al DNA anti-benzo(a)pirene diolepossido (B(a)PDE)-DNA, addotto formato dal principale metabolita attivo del B(a)P.

Elenco pubblicazioni:

Nersesyan A.-Perrone E.-Roggieri P.-Bolognesi C.

Cytogenetic toxicity of cycloplatin in human lymphocytes: detection by the micronucleus test and fluorescence in situ hybridization.

Anticancer Drugs 17:289/295, 2006

Boffa L.-Menichini P.-Bolognesi C.-Cutrona G.-Roncella S.-Damonte G.-Millo E.-Mariani M.-Matis S.-Russo D.-Ciliutti P.-Ferrarini M.

Lack of mutagenicity and clastogenicity of PNAEmu/NLS targeted to a regulatory sequence of the translocated c/myc oncogene in Burkitt's lymphoma.

Mutat. Res. Gen. Tox. En. 628:129/137, 2007

Bolognesi C.

La biodosimetria citogenetica negli eventi accidentali ed ostili.

Agg. di Radioprotezione, N. 2, Nov. 2007

Fenech M.-Bolognesi C.-Kirsch M.-Bonassi S.-Zeiger E.-Knasmüller S.-Holland N.

Harmonisation of the micronucleus assay in human buccal cells, a Human Micronucleus (HUMN) project (www.humn.org) initiative commencing in 2007.

Mutagenesis 22:3/4, 2007

Garte S.-Taioli E.-Popov T.-Bolognesi C.-Farmer P.-Merlo F.

Genetic susceptibility to benzene toxicity in humans.

J. Toxicol. Environ. Health A 71:1482/1489, 2008

Holland N.-Bolognesi C.-Kirsch M.-Bonassi S.-Zeiger E.-Knasmüller S.-Fenech M.

The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps.

Mutat. Res. Rev. Mutat. 659:93/108, 2008

Pala M.-Ugolini D.-Ceppi M.-Rizzo F.-Maiorana L.-Bolognesi C.-Schiliro' T.-Gilli G.-Bigatti P.-Bono R.-Vecchio D.

Occupational exposure to formaldehyde and biological monitoring of Research Institute workers.

Cancer Detect. Prev. 32:121/126, 2008

Pavanello S.-Kapka L.-Siwinska E.-Mielzynska D.-Bolognesi C.-Clonfero E.

Micronuclei related to anti/B[a]PDE/DNA adduct in peripheral blood lymphocytes of heavily polycyclic aromatic hydrocarbon exposed nonsmoking coke oven workers and controls.

Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 17:2795/2799, 2008