



**DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE E ONCOLOGIA UMANA
SEZIONE DI MEDICINA INTERNA E ONCOLOGIA MEDICA
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI ALDO MORO
U.O. PROF. FRANCO SILVESTRIS**

Macroarea: 1: Monitoraggi delle matrici ambientali e studio integrato delle contaminazioni ambientali	Responsabili: Roberto Giua (ARPA Puglia)
Linea di Intervento: 1.9 PJS - Studio di tossicità in vitro e in vivo	Responsabili: R. Giua, G. Assennato (ARPA Puglia)

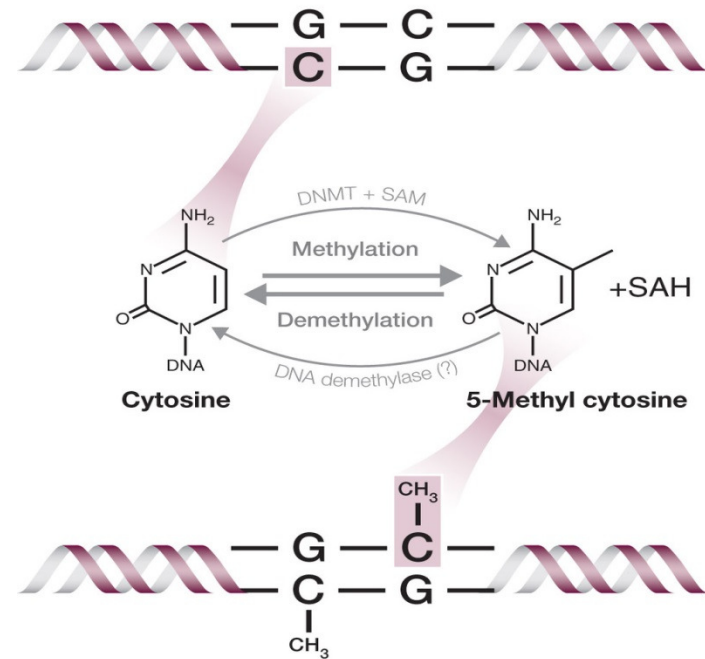
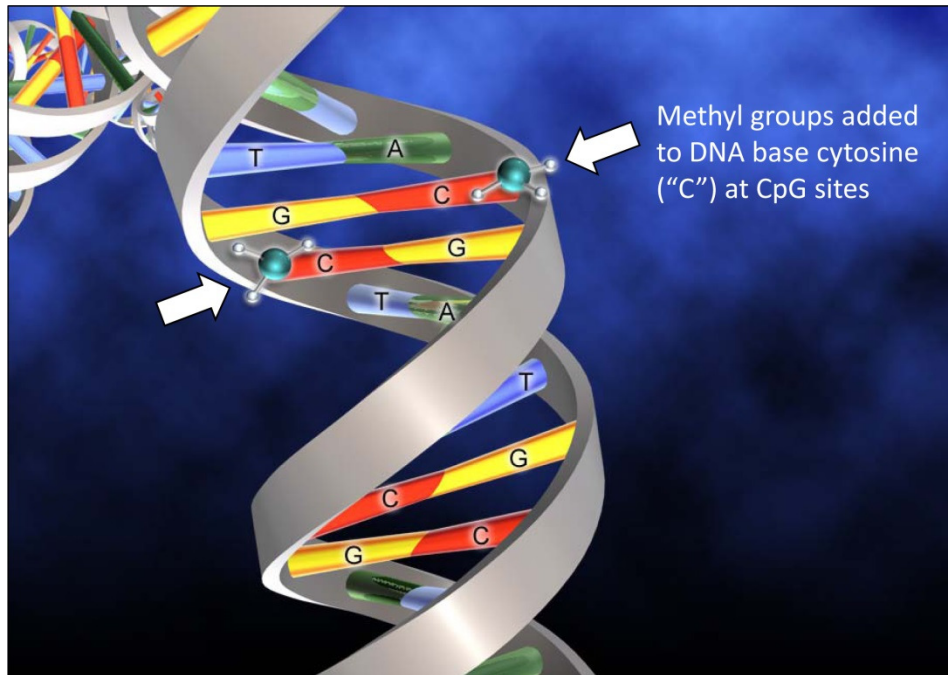
- ***Analisi dei livelli di metilazione generale e specifica su una linea cellulare di epitelio alveolare (A549) esposta ad inquinanti atmosferici mediante strumento CULTEX.***
- ***Valutazione dei livelli di espressione genica (mRNA e miRNA) mediante Real Time (RT)-PCR di geni coinvolti nei meccanismi di infiammazione, apoptosi, stress ossidativo e disfunzioni dell'epitelio.***

Macroarea 2: Valutazione dell'esposizione a inquinanti ambientali	Responsabili: Michele Conversano (ASL Taranto), Alberto Fedele (ASL Lecce), Carlo Leo (ASL Brindisi) Vittorio Esposito (ARPA Puglia)
Linea di Intervento 2.1: PJS –CCM Definizione dei livelli espositivi della popolazione residente, attraverso lo studio dei carichi corporei degli inquinati) metalli pesanti, idrocarburi policiclici aromatici e diossine)	Responsabili: Tatiana Battista, Augusto Giorgino (ASL Taranto), Rino Rainò (ASL Brindisi), Morea M. A. (ASL Lecce) Gianluigi de Gennaro, Roberto Giua (ARPA PUGLIA)

Valutazione dei livelli di esposizione agli inquinanti atmosferici di bambini in età scolare residenti nelle aree individuate nell'ambito del PJS.

- **Analisi dei livelli di metilazione generale del DNA su leucociti da sangue periferico.**
- **Analisi di metilazione specifica su geni in cui è stato già dimostrato l'effetto di vari inquinanti ambientali tra cui STAT3, IFNGR1, PRKG1, PARD3, EPHA8, PTEN, SAT α , NBL2, e D4Z4.**
- **Valutazione dei livelli di espressione genica (mRNA e miRNA) di geni sensibili agli inquinanti ambientali.**

MECCANISMO DI METILAZIONE DEL DNA



La metilazione del DNA è un meccanismo epigenetico che le cellule eucariotiche utilizzano per controllare l'espressione genica. Essa consiste nell'aggiunta di un gruppo metile CH₃, donato da una S-adenosil-L-metionina (SAM), in genere al quinto atomo di carbonio di una citosina ad opera di DNA metiltransferasi (DNMT).

E' coinvolta in numerosi processi vitali quali lo sviluppo embrionale, l'inattivazione del cromosoma X, l'imprinting genomico, la soppressione genica, la carcinogenesi e la stabilità cromosomica.

METILAZIONE DEL DNA E TUMORI



Oncogene (2002) 21, 5400–5413
© 2002 Nature Publishing Group All rights reserved 0950–9232/02 \$25.00
www.nature.com/onc

DNA methylation in cancer: too much, but also too little

Melanie Ehrlich^{*,1,2}

¹Human Genetics Program/SL31, Department of Biochemistry, Tulane Medical School, New Orleans, Louisiana, LA 70122, USA;

²Tulane Cancer Center, Tulane Medical School, New Orleans, Louisiana, LA 70122, USA

OPEN ACCESS Freely available online



Global DNA Hypomethylation in Peripheral Blood Leukocytes as a Biomarker for Cancer Risk: A Meta-Analysis

April 2012 | Volume 7 | Issue 4 | e3461

Hae Dong Woo, Jeongseon Kim*

Cancer Epidemiology Branch, National Cancer Center, Goyang-si, Korea

Alterazioni della metilazione del DNA sono state correlate con diverse malattie tra cui difetti congeniti, malattie neurologiche e autoimmuni e tumori.

Tali alterazioni riguardano sia l'ipermetilazione che l'ipometilazione. In particolare l'ipermetilazione induce generalmente silenziamento genico, mentre l'ipometilazione permette ad un gene di essere riespresso.

Al momento quello che è stato dimostrato è che nei pazienti oncologici si osserva ipometilazione generale del DNA, anche se nelle cellule tumorali è stata descritta ipermetilazione di geni correlati con il controllo del ciclo cellulare e dell'invasività tumorale.

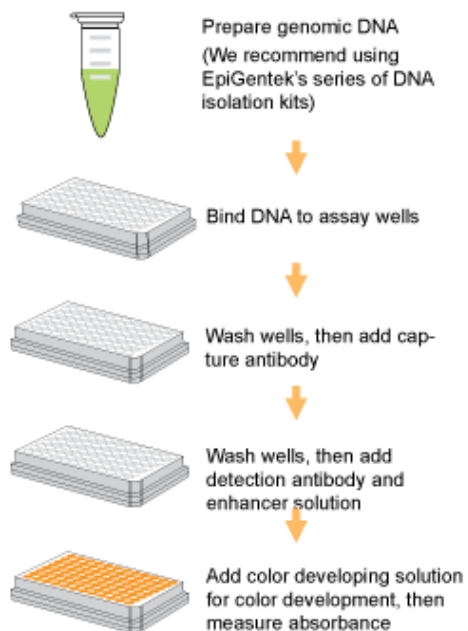
VALUTAZIONE DEL LIVELLO GENERALE DI METILAZIONE DEL DNA



Estrazione DNA da 500 μ l di sangue

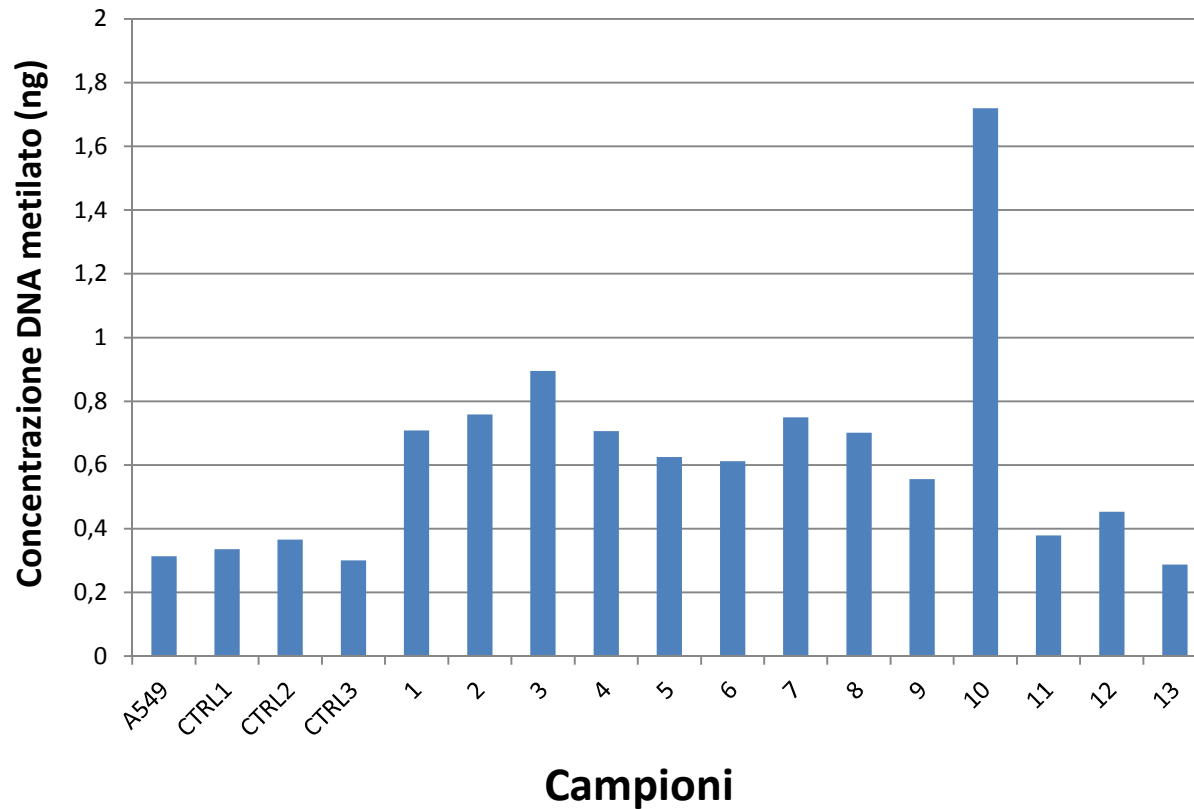


campioni di sangue periferico di n. 13 operai ILVA ricevuti dall'ARPA, n. 3 controlli non esposti, linea cellulare A549.



La concentrazione del DNA metilato è stata ricavata mediante interpolazione delle densità ottiche (OD) sulla curva standard ottenuta con concentrazioni di DNA metilato comprese in un range tra 0,5 ng/ μ l e 10 ng/ μ l.

RISULTATI



Campioni	DNA metilato (ng)
A549	0,313
CTRL1	0,335
CTRL2	0,366
CTRL3	0,300
1	0,447412
2	0,758249
3	0,895518
4	0,705956
5	0,625338
6	0,612264
7	0,749534
8	0,701598
9	0,555614
10	1,719134
11	0,379125
12	0,453206
13	0,287612

CONCLUSIONI

- I risultati ottenuti evidenziano delle quantità di DNA metilato inferiori ad 1 ng, tranne che nel paziente #10 suggerendo probabilmente uno stato di ipometilazione generale.
- Tuttavia per poter parlare di ipometilazione o ipermetilazione globale sarà necessario incrementare la numerosità campionaria e testare campioni di soggetti provenienti da aree diverse o non esposti.
- Su questi campioni potrà successivamente essere completata l'analisi della metilazione dei geni specifici individuati nel progetto.
- Per la linea cellulare A549 sono presenti in letteratura recenti evidenze che descrivono uno stato di ipometilazione globale basale che viene modificato in presenza di nanoparticelle a base di carbonio presenti nell'ambiente.
Low-dose carbon-based nanoparticle-induced effects in A549 lung cells determined by biospectroscopy are associated with increases in genomic Methylation.
Junyi Li, et al. Scientific Reports 6:20207, 2016.