Identificazione in Patella caerulea di un nuovo biomarcatore di esposizione a inquinanti marini

F.E.P. – CAMPANIA 2007/2013 – AVVISO PUBBLICO PROGETTI RETROSPETTIVI – MISURA 3.5 "Progetti Pilota" – UOD Pesca, acquacoltura e caccia –

Responsabile: Dott. Giovanni Renzone

Il tema della identificazione di molecole bioattive indice di esposizione a contaminanti ambientali nei cosiddetti organismi marini sentinella riveste un ruolo di primaria importanza in ambito scientifico ma anche nella programmazione delle strategie di sviluppo nel settore della pesca, a causa delle notevoli ricadute su qualificazione delle produzioni e razionalizzazione del settore.

Presso l'Istituto per il Sistema Produzione Animale in Ambiente Mediterraneo dal 01/03/2015 al 31/12/2015 è stato effettuato uno studio sperimentale con l'obiettivo di identificare nella comune patella del Mediterraneo (*Patella caerulea*) un biomarcatore proteico indicatore di esposizione a inquinanti marini mai precedentemente descritto per i molluschi.

La patella è un mollusco gastropode molto abbondante nel mar Mediterraneo, a cui è associata una certa economia legata al suo impiego nell'alimentazione umana in diverse aree costiere mediterranee. Come altri molluschi, la patella è spesso soggetta a condizioni ambientali estreme (inquinanti ambientali, irraggiamento UV, cicli di essiccamento/idratazione) che possono determinare stress ossidativo.

METODO. La ricerca ha previsto la preparazione di un estratto grezzo dopo omogeneizzazione di polpa di patelle. Tale estratto è stato purificato grazie a una serie di passaggi analitici (cromatografia a scambio cationico, precipitazione e filtrazione su gel). Le frazioni ottenute sono state verificate per l'attività enzimatica di idrolasi del dipeptide cisteinil-glicina (Cys-Gly); quelle risultate attive sono state riunite insieme e sottoposte a separazione su gel (1-D-SDS-PAGE), che ha evidenziato una banda proteica dalla massa apparente di 54 kDa, corrispondente all'enzima purificato. Tale banda proteica è stata infine identificata con elevata confidenza mediante l'impiego di moderne metodologie di spettrometria di massa biomolecolare (nLC-ESI-LIT-MS/MS) e di bioinformatica.

RISULTATI. Lo studio condotto ha permesso di caratterizzare in *Patella caerulea* un'attività enzimatica di idrolasi del dipeptide Cys-Gly dal punto di vista sia biochimico che strutturale. Tale attività enzimatica, mai descritta prima per tale organismo, è stata associata univocamente a una proteina della famiglia delle peptidasi M17, queste ultime già note per essere coinvolte nella regolazione dell'omeostasi ossidoriduttiva cellulare in vari vertebrati. Il dipeptide Cys-Gly è un prodotto di degradazione del glutatione (GSH), una delle molecole antiossidanti che le cellule sintetizzano per preservare il loro bilancio ossidoriduttivo e prevenirne squilibri. E' noto che il dipeptide Cys-Gly possa promuovere condizioni ossidative specie in presenza di comuni inquinanti marini quali ioni di metalli di transizione (Fe^{3+}, Cu^{2+}, ecc.). L'enzima caratterizzato, essendo in grado di idrolizzare il dipeptide Cys-Gly, è capace, quindi, di regolare l'omeostasi dello stato ossidoriduttivo cellulare in *Patella caerulea*, e una sua aumentata biosintesi può essere spia di un aumentato livello di stress.

Le evidenze sperimentali prodotte sono, quindi, di notevole impatto poiché consentono di comprendere meglio la biologia di *Patella caerulea*, ma soprattutto di dotare di un nuovo biomarker il repertorio di marcatori biochimici di stress ossidativo già noti per i molluschi, organismi per i quali è stato proposto l'impiego come sentinelle ambientali. La rivelazione di tale biomarcatore può essere vantaggiosamente impiegata per la qualificazione dell'ambiente di crescita di *Patella caerulea* e per la certificazione di tale produzione ittica del Mediterraneo, consentendo di distinguere tra molluschi raccolti in ambienti dalle caratteristiche igienico-sanitarie adeguate da quelli pescati in aree marine contaminate. I risultati dello studio sono stati pubblicati dalla prestigiosa rivista internazionale Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry.