



Bari,
7-10 novembre 2013

L'ipogonadismo maschile modifica la composizione proteica del plasma seminale

Dott.ssa Sabrina Chiloiro

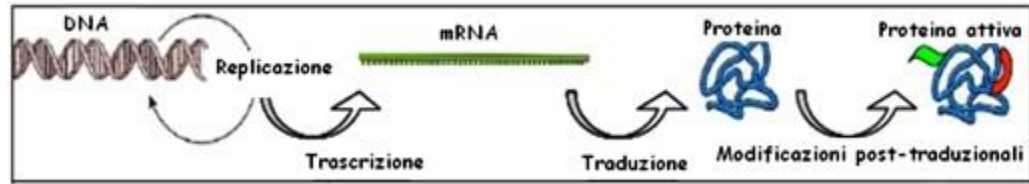
**Grande G, Milardi D, Vincenzoni F, Giampietro A, Messana I, Castagnola M,
Marana R, Pontecorvi A, De Marinis L.**



**Divisione di Endocrinologia
Policlinico Universitario A. Gemelli
Università Cattolica, Roma**

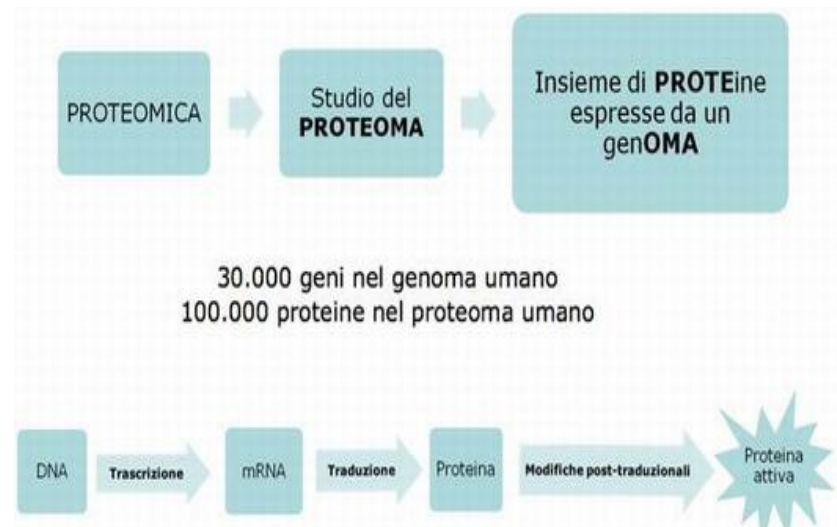
Introduzione: la Proteomica

La proteomica è una nuova scienza *-omica* che studia il **PROTEOMA**, ossia la struttura e la funzione **dell'insieme delle proteine** complessivamente espresse dal genoma di un organismo o di un sistema biologico



E' noto che a causa di modifiche post-traduzionali delle proteine, ad un genoma possono corrispondere più di un proteoma, il cui limite superiore non è ancora definibile

Rispetto alla genetica e alla genomica, la proteomica permette dunque di “fotografare” l'espressione delle proteine e delle loro modificazioni post-traduzionali, in maniera cellulo- e tempo-specifica.





Scopo dello studio, pazienti e metodi



Bari,
7-10 novembre 2013

Scopo dello studio

Il plasma seminale (PS) contiene numerose proteine coinvolte in processi fisiologici connessi con la fertilità quali: la capacitazione dello spermatozoo; la modulazione della risposta immunitaria in utero; la formazione del reservoir degli spermatozoi in utero; il legame spermatozo-zona pellucida.

Al fine di analizzare il ruolo del testosterone nella modulazione della espressione proteica seminale, abbiamo studiato il proteoma seminale in pazienti affetti da ipogonadismo secondario.

Pazienti

20 pazienti affetti da **ipogonadismo secondario severo (post-NCH da almeno 6 mesi)**

Controlli: 5 soggetti sani, normogonadici fertili.

Criteri di inclusione: T<2,5 ng/ml, T-libero <1.6% e sintomi clinici di ipogonadismo

Metodi

E' stata effettuata l'analisi proteomica del plasma seminale mediante spettrometria di massa con apparato Ultimate 3000 Nano/Micro-HPLC, associato ad un FLM-3000-Flow manager module, ed accoppiato con uno spettrometro di massa ibrida **LTQ Orbitrap XL**. Al fine di garantire un'elevata accuratezza sono state utilizzati criteri stringenti per l'identificazione proteica (**confidenza della proteina >95%, FDR<0,01, Xcorr>3**).

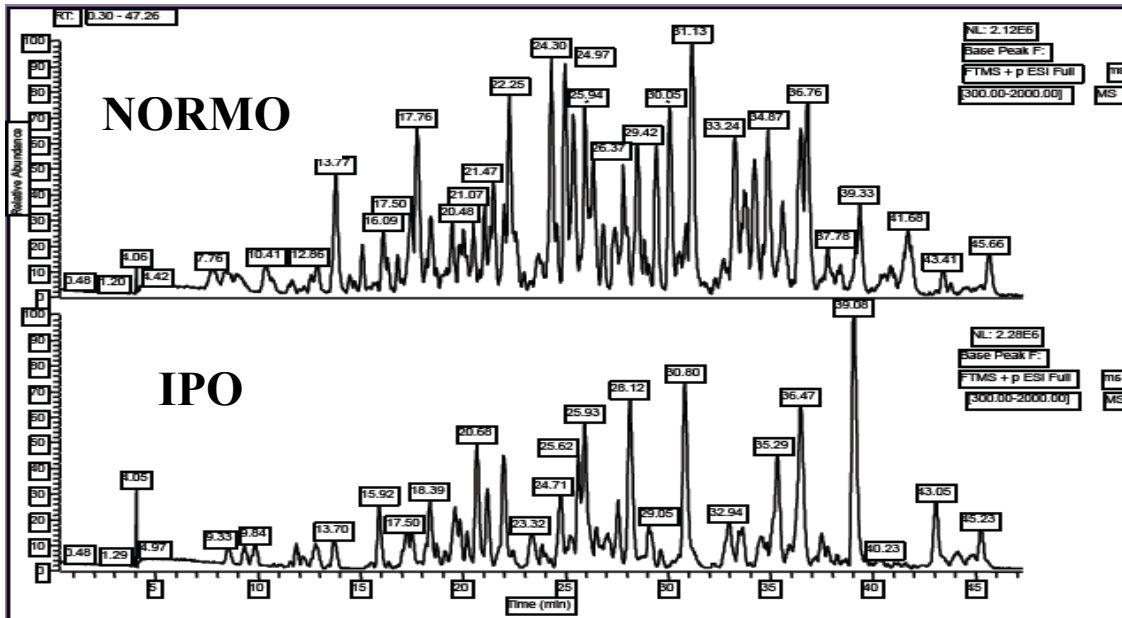
E' stato quindi eseguito uno studio mediante strumenti di tipo bioinformatico (PANTHER) delle annotazioni **Gene Ontology per l'analisi della funzione molecolare** di tali proteine.

Strumenti di tipo bioinformatico (STRING) sono stati impiegati per lo studio dell'interazione delle proteine tra loro e con il recettore androgenico (AR)

Risultati



Bari,
7-10 novembre 2013



- ✓ Tra le 61 proteine identificate nei controlli, 33 proteine erano assenti nei pazienti ipogonadici, tra cui alcune proteine coinvolte nella fisiologia e nella fisiopatologia della riproduzione maschile.
- ✓ Lo studio bioinformatico per la caratterizzazione funzionale delle proteine assenti nei pazienti ipogonadici ha evidenziato una alta percentuale di proteine ad attività binding e catalitica.
- ✓ 7 delle 33 proteine mancanti negli ipogonadici fanno parte di un network di meccanismi di interazione che coinvolgono direttamente il recettore androgenico.

PROTEIN NAME

Myeloperoxidase
 Thyroglobulin
 Alkylated DNA repair protein alkB homolog 8
 Carboxypeptidase E
 Coagulation factor VIII
 Coiled-coil domain-containing protein 25
 Colorectal mutant cancer protein
 Cystatin-C
 Dedicator of cytokinesis protein 1
 DnaJ homolog subfamily C member 12
 Extracellular matrix protein 1
 Filamin-A
 Glutamate receptor ionotropic, NMDA 1
 Glycerol-3-phosphate dehydrogenase, mitochondrial
 Ig kappa chain C region
 Lactotransferrin
 Peptide-N(4)-(N-acetyl-beta-glucosaminyl)asparagine amidase
 Prolactin-inducible protein
 Prostatic acid phosphatase
 Protein S100-A9
 Ras-GEF domain-containing family member 1A
 Rho GTPase-activating protein 10
 Ribonuclease P protein subunit p29
 SNARE-associated protein Snapin
 Sodium channel protein type 7 subunit alpha
 Trace amine-associated receptor 5
 Transmembrane protease serine 6
 Tufelin-interacting protein 11
 Uncharacterized protein C12orf54
 Uncharacterized protein CXorf57
 Vasohibin-1
 WD repeat-containing protein 26
 Zinc-alpha-2-glycoprotein



Conclusioni



Bari,
7-10 novembre 2013

- ✓ L'approccio proteomico ha permesso l'identificazione di un pattern di proteine assenti nel plasma seminale in tutti i pazienti ipogonadici, la loro caratterizzazione funzionale e il network di interazione con il recettore androgenico, mediante l'impiego di un moderno spettrometro LTQ-Orbitrap e di strumenti di tipo bioinformatico.
- ✓ L'assenza di specifiche proteine seminali (coinvolte nella liquefazione e nella capacitazione con predominante funzione catalitica e di legame) può contribuire a spiegare l'associazione tra ipogonadismo maschile ed infertilità.
- ✓ Le proteine mancanti identificate potrebbero costituire possibili target proteici dell'azione androgenica *in vivo*, ed essere utili nella pratica clinica come biomarker tissutali dell'ipogonadismo, in un'ottica di medicina personalizzata