



**Richiesta per borsa di studio da attivare ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del
10/08/2021**

Il sottoscritto Susanna Dolci, prof. Ordinario afferente al Dipartimento di Biomedicina e
Prevenzione, Interno 6252 email dolci@uniroma2.it

CHIEDE

L'attivazione di una borsa di studio di dottorato ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del
10/08/2021. A tal fine comunica quanto segue:

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:
BIOTECNOLOGIE MEDICO-CHIRURGICHE e MEDICINA TRASLAZIONALE

Area per la quale si presenta la richiesta (selezionare solo una delle due):

Innovazione

Green

Tipologia di cofinanziamento (pari ad euro 8000 una tantum):

Nome dell'Ente finanziatore pubblico o privato: Dipartimento Medicina dei Sistemi

Persona di Riferimento: Emmanuele Jannini

Email eajannini@gmail.com

Fondi di ricerca dipartimentali

Progetto di Ricerca

**EFFETTI DELLE PARTICELLE MICRO-NANOPLASTICHE E DEGLI
INTERFERENTI ENDOCRINI SULLO SVILUPPO DELLE CELLULE GERMINALI,
NEL TOPO.**

La produzione di rifiuti di plastica e il conseguente inquinamento plastico incontrollato è uno
dei principali problemi ambientali che i governi e le agenzie devono affrontare oggi. La nostra
proposta di ricerca tenta di affrontare la questione se le particelle micro-nanoplastiche (MNP)
e gli interferenti endocrini (EDC), che derivano dai cicli di produzione e di smaltimento delle
materie plastiche, possano indurre effetti biologici tra cui ereditabili cambiamenti epigenetici e
se questi cambiamenti siano correlati al drammatico aumento dei disordini delle cellule
germinali che si sono verificati negli ultimi 50 anni tra la popolazione maschile e femminile
nei paesi ben sviluppati. Un ulteriore

È noto che cellule e sistemi biologici possono essere influenzati da xeno-composti attraverso
alterazioni dei sistemi genetici a diversi livelli. Oltre a influenzare lo sviluppo delle cellule
germinali a causa del rilascio di IE, le particelle MNP che raggiungono il flusso sanguigno
possono potenzialmente influenzare la biologia delle cellule germinali dei mammiferi,
inducendo la morte delle cellule germinali o riducendo la competenza, a maturare, a subire
fecondazione, sviluppo embrionale precoce e impianto nei sistemi dei mammiferi. Queste



sostanze esogene possono indurre modificazioni dell'espressione genica, attivazione di vie di danno e riparazione del DNA, metabolismo dell'RNA. Tuttavia, i meccanismi d'azione di queste sostanze tossiche ambientali sull'uomo e su altri organismi non sono stati ancora ben stabiliti.

I risultati nella genomica funzionale e negli studi post-genomici aprono ora nuove frontiere per comprendere meglio gli effetti dei composti ambientali sul genoma e sull'espressione dei geni negli organismi viventi.

Nello specifico, ci concentreremo sulle particelle nanoplastiche convenzionali di origine fossile, come il polistirene e il polipropilene e sul bisfenolo A, un interferente endocrino rilasciato dalle particelle di plastica convenzionali. Studieremo inoltre gli effetti di bioplastiche quali il poly-lactic acid (PLA), un biopolimero utilizzato in una vasta gamma di applicazioni che includono pellicole di plastica, bottiglie e dispositivi medici biodegradabili (ad esempio viti, perni, aste e piastre che dovrebbero biodegradarsi entro 6-12 mesi).

Il nostro progetto mira a concentrarsi su tre aspetti principali:

Specificazione delle cellule germinali primordiali (PGCs) a seguito dell'esposizione a MNP/EDC in vitro.

Cercheremo di comprendere l'influenza di MNP ed EDC di scelta sullo sviluppo e sulla stabilità epigenomica delle PGCs nascenti, che ha rilevanza per la salute umana. Utilizzeremo un modello altamente fedele per valutare l'impatto degli MNP sulla specificazione e sulla stabilità dell'epigenoma durante le prime fasi dello sviluppo della linea germinale. Il sistema di derivazione di PGCs in vitro (PGC like cells, PGCLCs) viene avviato dalle cellule staminali embrionali (ESC) pluripotenti tramite l'induzione di cellule simili all'epiblasto (EpiLC) utilizzando FGF e Activin-A. Le EpiLC sono in grado di indurre PGCLCs tramite l'esposizione ai fattori di crescita BMP e WNT. In questo progetto stabiliremo inizialmente una pipeline di generazione di PGCLCs utilizzando nuovi sistemi di reporter di avvenuta specificazione germinale. Questo sarà possibile tramite utilizzo di ESCs derivate da animali transgenici che esprimono il gene reporter su comando di un promotore PGC-specifico (Blimp-EGFP, Stella-EFGP, Kit-EGFP). Successivamente testeremo rigorosamente gli effetti dell'esposizione a MNPs di scelta attraverso una gamma di concentrazioni titolate e fisiologiche rilevanti sulla specificazione delle PGCs. Infine, valuteremo l'impatto dell'esposizione a MNPs ed EDCs sull'espressione di geni di staminalità e di germinalità, modificazioni epigenetiche mediante analisi di immunofluorescenza del DNA e modificazioni istoniche. Estenderemo le nostre indagini sulla regolazione degli elementi trasponibili (TE), che sono elementi genomici potenzialmente pericolosi sotto controllo epigenetico. È importante sottolineare che si prevede che questi studi genereranno informazioni significative sugli effetti diretti degli MNP sulle cellule germinali nascenti e sulla riprogrammazione epigenetica.

Sopravvivenza, proliferazione e differenziamento meiotico delle cellule germinali maschili a seguito dell'esposizione a MNPs/EDCs in vitro.

Per comprendere il ruolo dei fattori che influenzano la sopravvivenza e la proliferazione della maturazione delle cellule germinali, è stata sviluppata in vitro una tecnica di coltura di organi di frammenti testicolari di topo neonatale che riproducono la spermatogenesi e consente la produzione di spermatozoi funzionali. Utilizzando questo sistema di coltura in vitro, frammenti di testicoli di topo isolati da topi transgenici che esprimono EGFP sotto il controllo del promotore del kit (che marca specificamente le PGCs e gli spermatozoni), saranno esposti a MNPs di scelta attraverso una gamma di concentrazioni titolate e fisiologiche rilevanti per



valutare la sopravvivenza delle cellule degli spermatogoni e morte cellulare, effetti del danno al DNA, espressione dei geni della staminalità e/o del commitment germinale e marcatori meiotici. Inoltre, cercheremo di comprendere l'impatto di MNPs ed EDCs sulla progressione della spermatogenesi. Se la spermatogenesi risulterà alterata, indagheremo le alterazioni della ricombinazione meiotica e della formazione del crossover e quella dell'MSCI negli spermatociti e nelle cellule post meiotiche. Geni rilevanti nella risposta MNP e direttamente regolati da fattori di splicing saranno quindi validati valutando il loro livello di espressione e pattern di splicing alternativo in presenza o meno di MNP nel sistema di coltura d'organo in vitro.

Saranno studiati i profili di espressione genica delle diverse classi di cellule germinali postnatali (spermatogoni, spermatociti e spermatidi) esposte a MNPs e EDCs, tramite RNAseq di mRNA totale e di mRNA caricato su polisomi, mediante analisi bioinformatica. Capacità fecondante di spermatozoi esposti a MNP/EDC in vitro e successivo sviluppo embrionale.

Studieremo il potenziale effetto delle MNPs e degli EDCs sulla capacità fecondante degli spermatozoi di topo esposti a MNPs o a EDCs tramite esperimenti di fecondazione in vitro, e sulla embriogenesi iniziale, dopo esposizione agli xeno-composti.

Obiettivi formativi

Conoscenza dei complessi meccanismi che controllano la gametogenesi maschile, la fecondazione e l'embriogenesi pre-impianto.

Identificazione dei meccanismi molecolari attraverso i quali MNPs o EDCs esercitano la loro azione sulle cellule germinali.

Identificazione di potenziali meccanismi transgenerazionali di MNPs e di EDCs

Acquisizione di conoscenze bioinformatiche tramite la partecipazione alle analisi dei dati ottenuti dagli studi del trascrittoma.

Produzione di pubblicazioni scientifiche

Attività previste :

Frequenza nei laboratori di biologia della riproduzione.

Corso di formazione sulla preparazione delle plastiche e sulla cinetica di rilascio dei distruttori endocrini

Corso di formazione sulle metodiche dell'analisi dei dati bioinformatici (Conoscenza del linguaggio R)

Partecipazione a congressi su Riproduzione e su Inquinamento ambientale.

Attività seminariali.

Attinenza del progetto all'area indicate:

L'inquinamento da materiale plastico e dai distruttori endocrini che ne vengono rilasciati è uno dei temi più scottanti per quanto riguarda la salute umana. In particolare il potenziale ruolo di questi xeno-composti nell'indurre danni cellulari agli organismi esposti e alla loro progenie impone uno studio approfondito per poter comprenderne i meccanismi d'azione, per poterne controllare gli effetti sulla capacità riproduttiva e per poter sensibilizzare l'opinione pubblica e gli organismi competenti (Società Scientifiche di medici, biologi, chimici; Industrie



TOR VERGATA
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA

Direzione II – Ricerca, Terza Missione, Procedure
Elettorali
Divisione I – Ricerca Nazionale
Ripartizione III – Scuola di Dottorato

per la produzione di materie plastiche; Imprese farmaceutiche che impiegano materiali plastici per la produzione di farmaceutici per uso umano o animale)

Risultati attesi:

Identificazione dei danni diretti alle cellule germinali indotti da MNPs e EDCs

Identificazione dei meccanismi molecolari attraverso i quali i MNPs e EDCs inducono tali danni.

Identificazione di molecole in grado di prevenire o ridurre l'intensità dei danni cellulari indotti dalle MNPs e EDCs

Azienda pubblica o privata coinvolta nazionale o straniera in cui si prevede di far svolgere il periodo obbligatorio da 6 a 12 mesi previsto dal Decreto Ministeriale:

Industria produzione plastica

Firma

Susanne Dohr