UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

SCIENZE BIOLOGICHE

L'esposizione al DEHP induce ferroptosi nel testicolo e distrugge l'integrità della barriera emato-testicolare

The common plasticizer DEHP induces ferroptosis in testes and destroys the BTP integrity

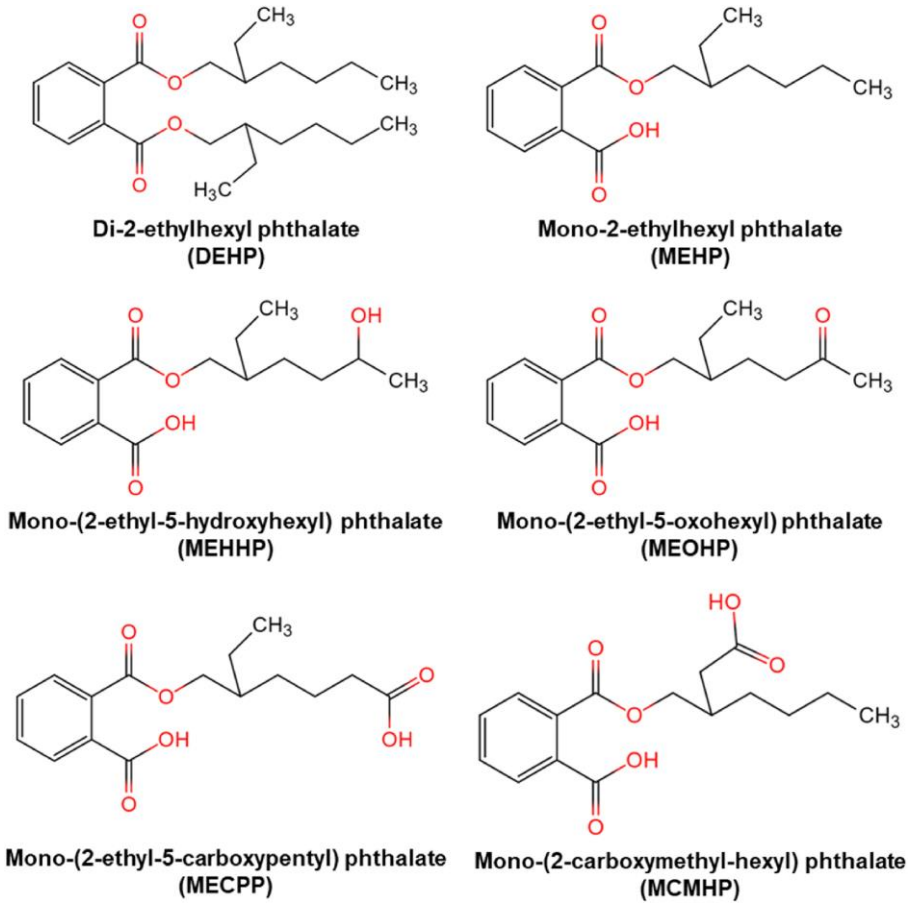
Tesi di Laurea di: Diana Manzotti

Docente Referente : Chiar.mo Prof. Francesca Maradonna

Sessione Autunnale

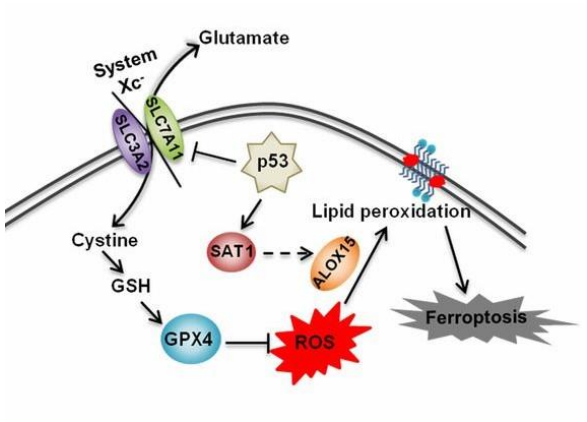
Anno Accademico 2022-2023

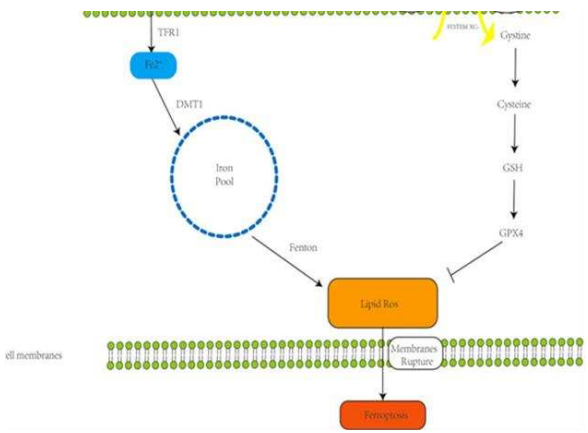
DEHP e i suoi principali metaboliti secondari

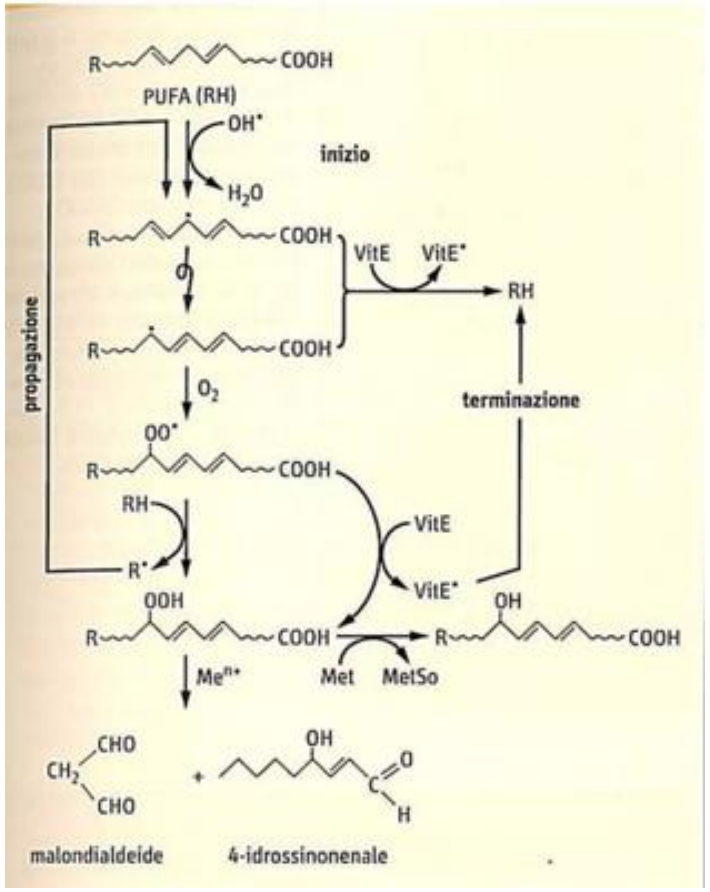


Ferroptosi

- **Processo di morte cellulare programmata dipendente dal Ferro e dall'accumulo di perossidi lipidici. La Ferroptosi è caratterizzata dall'abbassamento di GSH. P53 ha un ruolo cruciale, unico punto di convergenza con l'apoptosi ,ma gli inibitori delle caspasi non bloccano questo processo.**







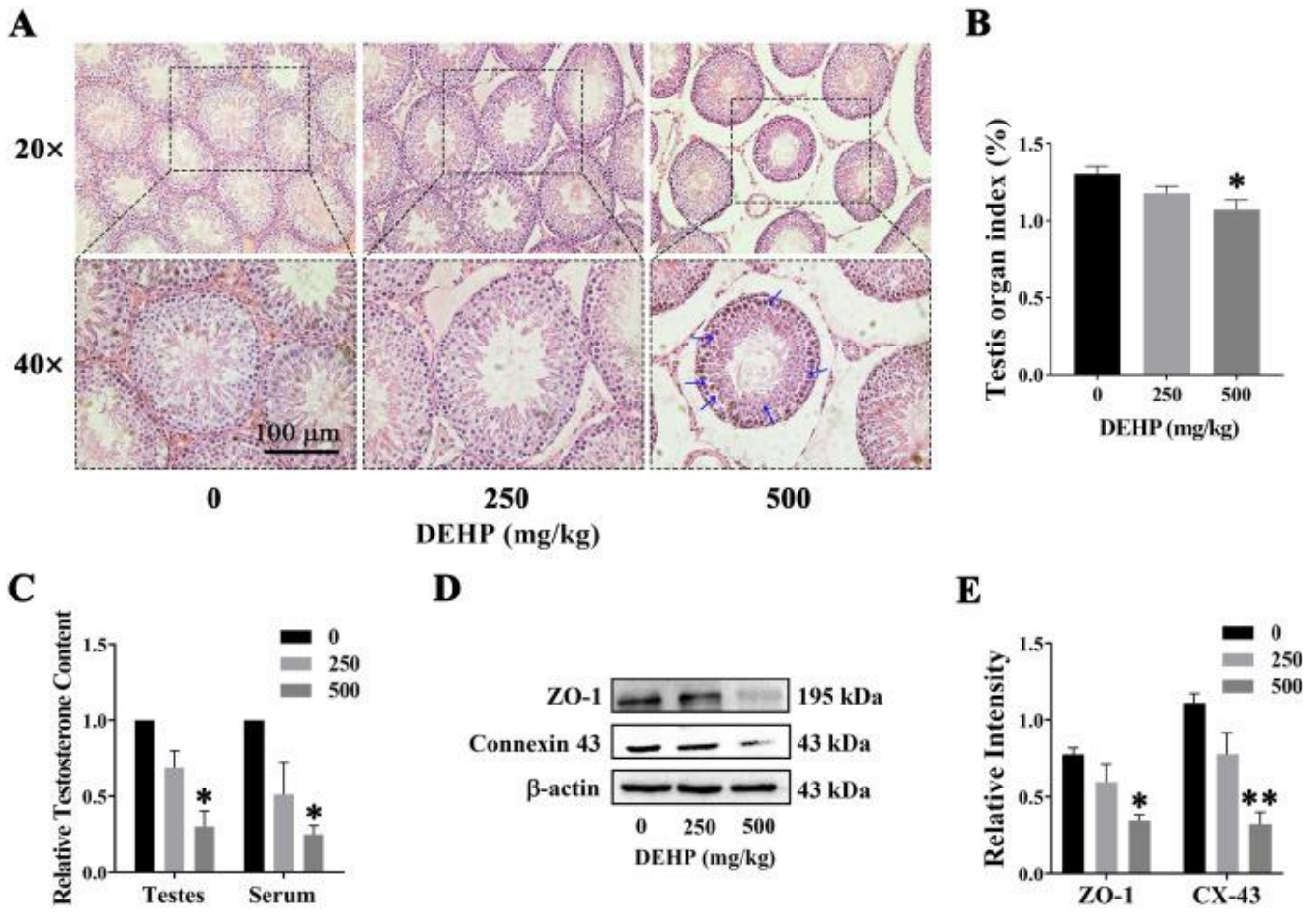
Finalità dello studio e metodi utilizzati

- **Obiettivo:**

Verificare se il DEHP induce la ferroptosi nei testicoli attraverso l'attivazione del pathway p-53-SAT1-ALOX15 mediato da p38.

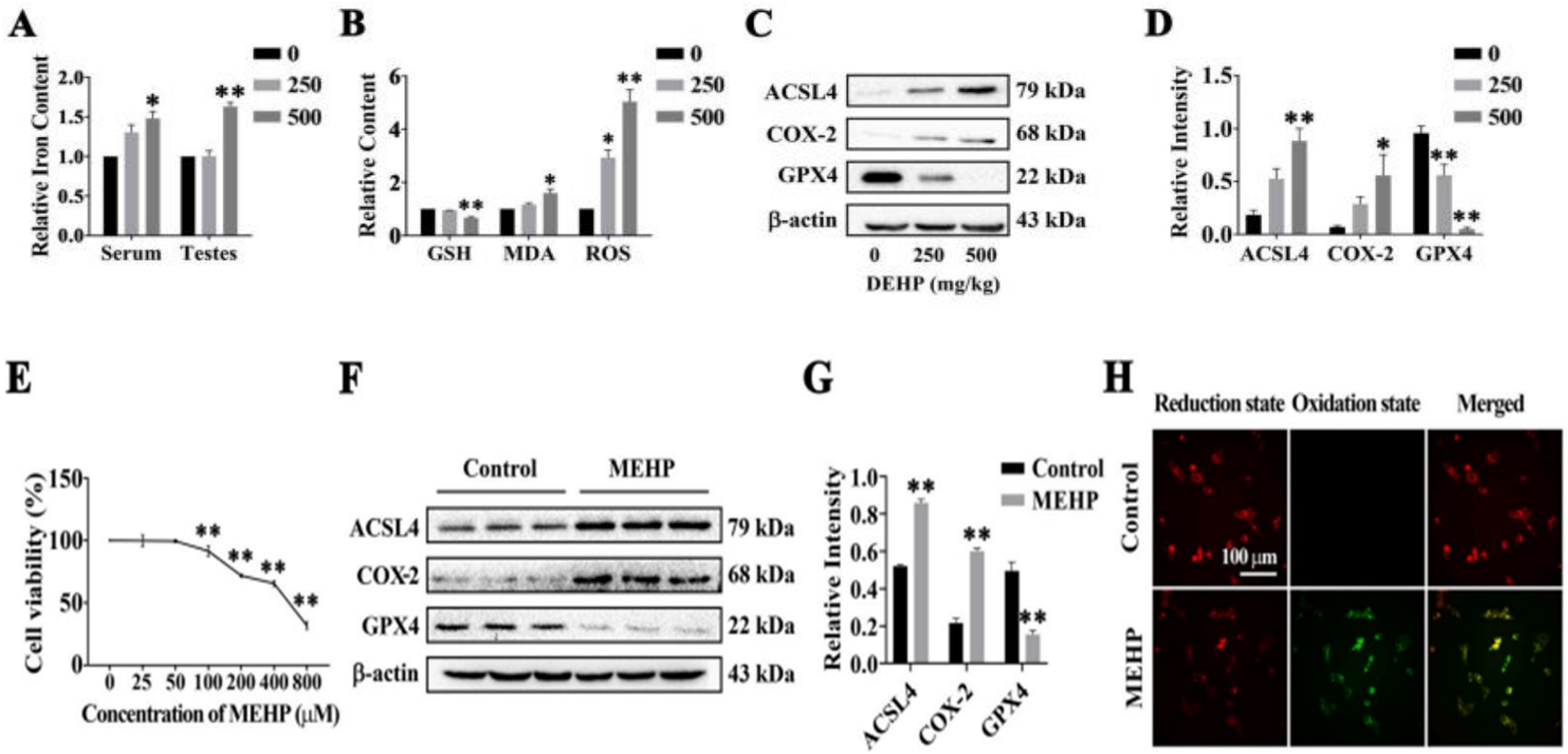
E se c'è una relazione tra l'attivazione della via p38 e la perossidazione lipidica

- **Metodi:**
- **modelli animale:** 24 ratti sono stati divisi casualmente in **tre gruppi.** Sono stati trattati quotidianamente mediante sonda gastrica per 5 settimane con DEHP , che è stato disciolto in olio di mais alla dose di **0, 250** e **500** mg/kg/die. Entro 24 ore dall'ultima dose, i ratti sono stati anestetizzati con pentobarbital e sacrificati in modo etico.
- **coltura cellulare (valutazione della vitalità con saggio CCK-8)**
- **trasfezione :** per evidenziare il ruolo e la funzione di p38α nella ferroptosi indotta da MEHP, è stato applicato **siRNA per sopprimere l'espressione di MAPK14.**
- Rilevazione contenuto di **ferro**
- **Esame Istologico**
- Rilevazione **GSH , MDA** e ROS
- Saggio ELISA per il dosaggio di **testosterone e di ROS**
- **Western Blotting**

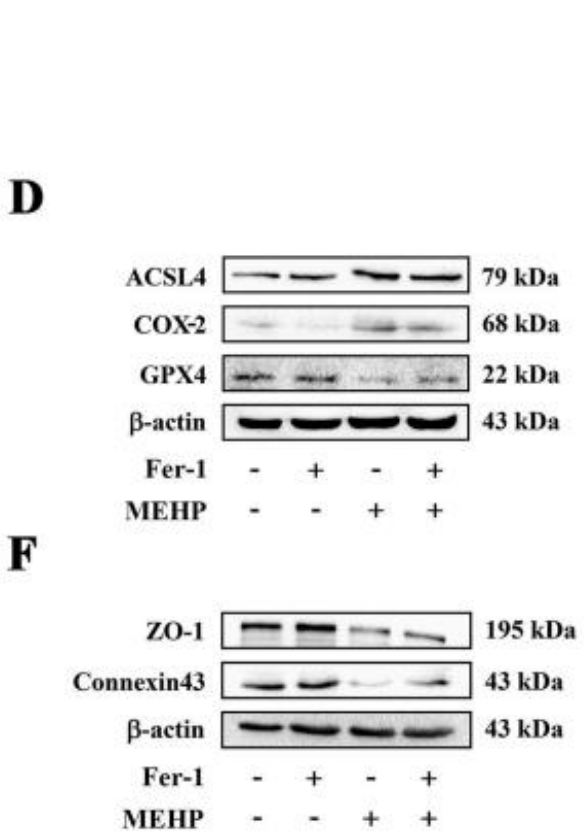


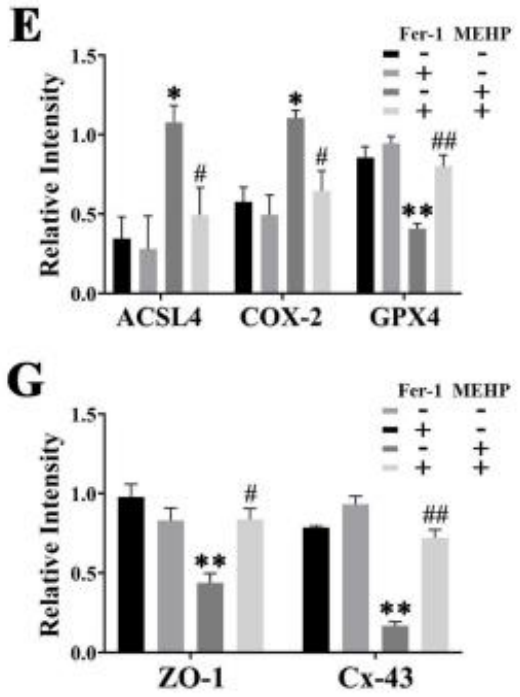
L’esposizione al DEHP ha causato danni ai testicoli dei ratti

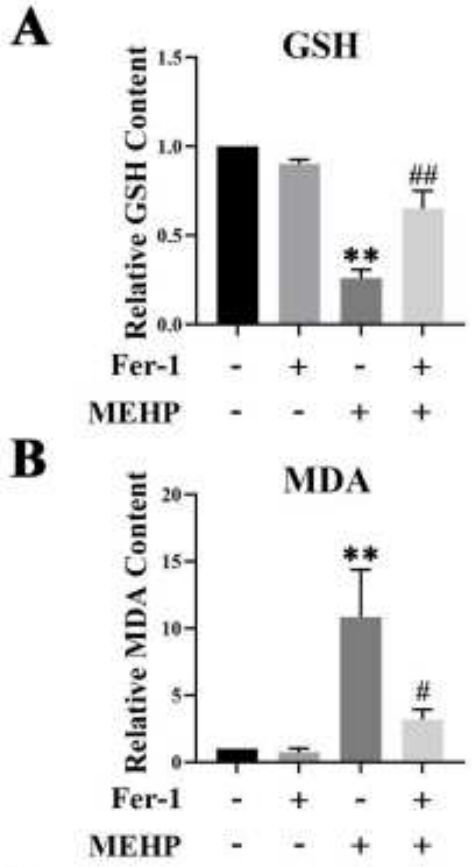
DEHP e MEHP hanno indotto Ferroptosi nei testicoli e nelle TM4



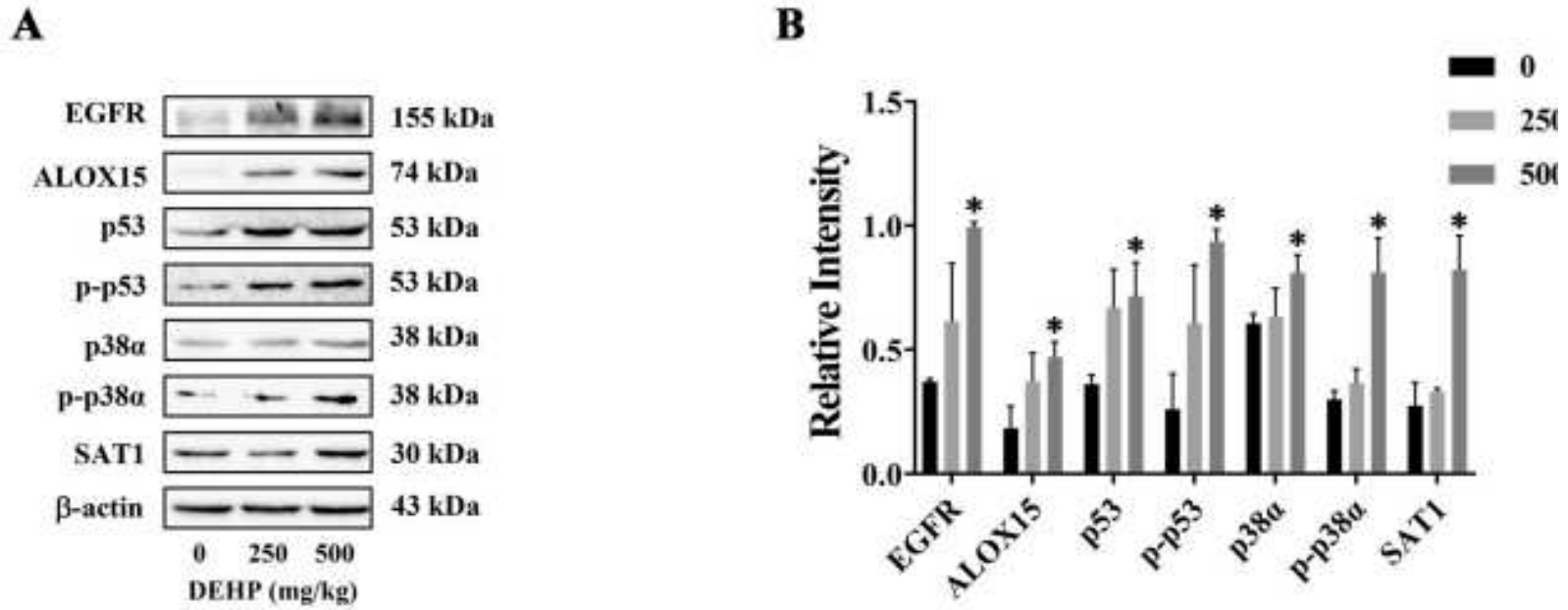
- **La ferroptosi nelle cellule TM4 ha danneggiato la BPB**

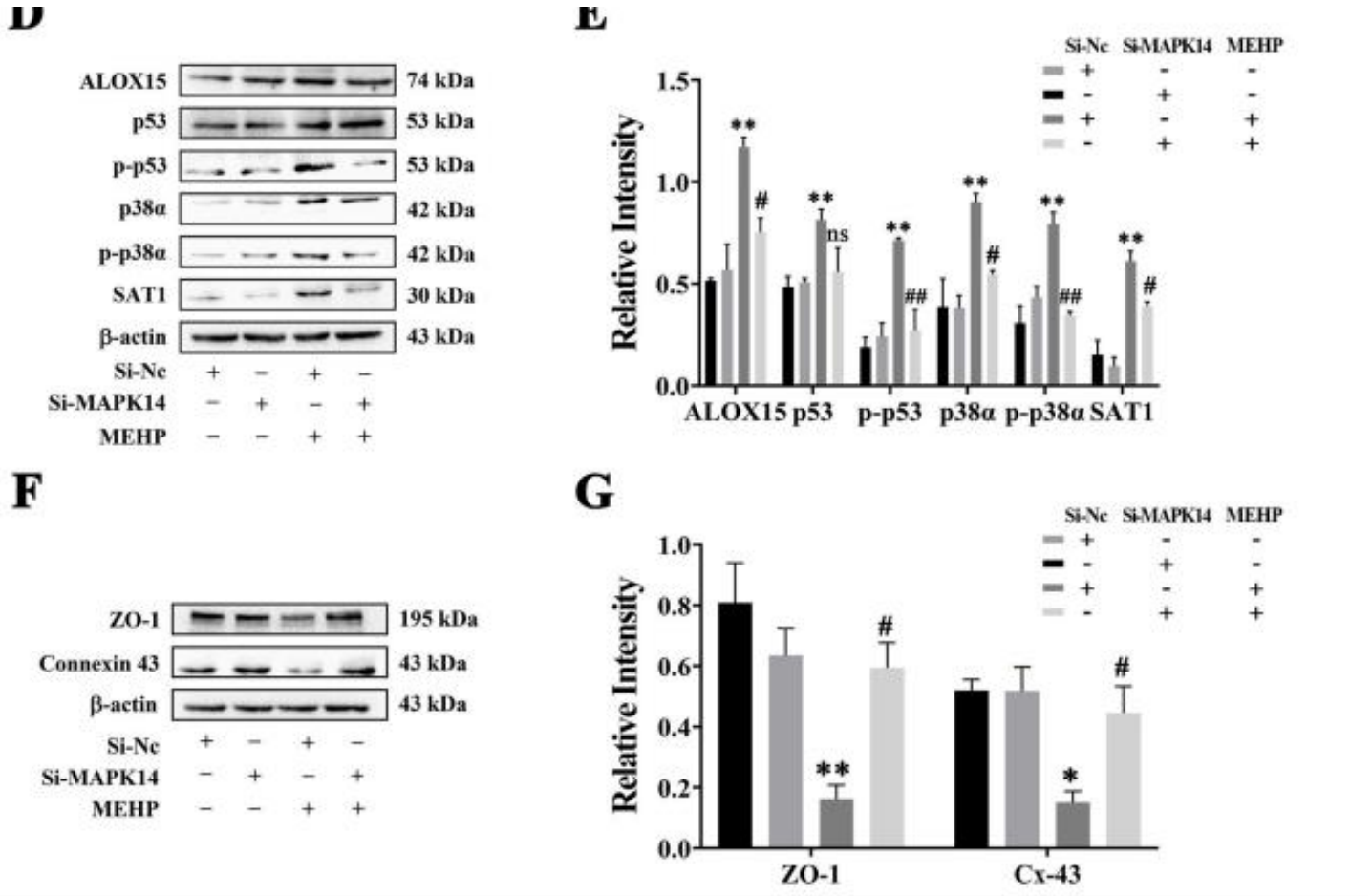




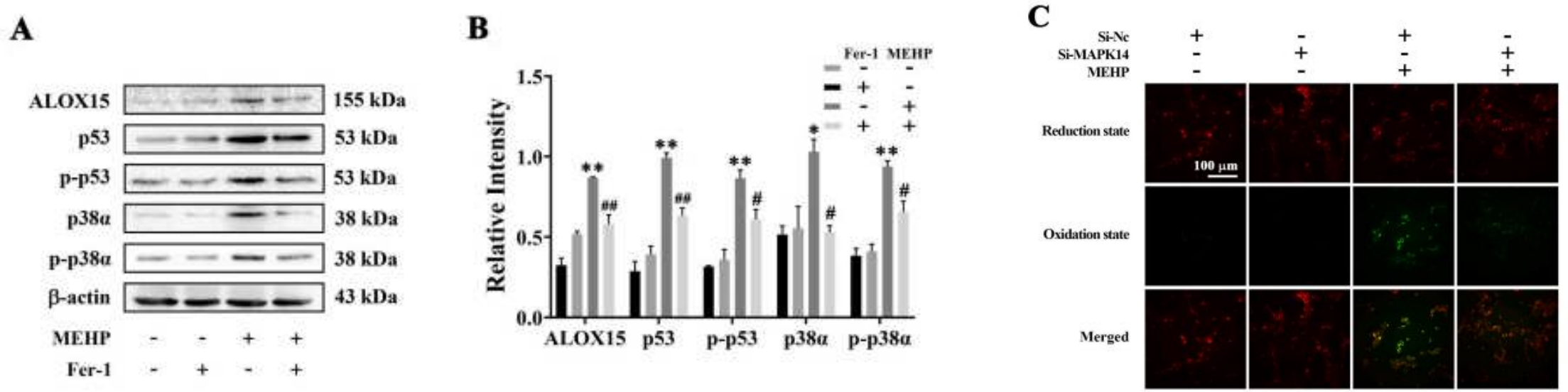


DEHP and MEHP hanno indotto EGFR/P38α/p53 pathway



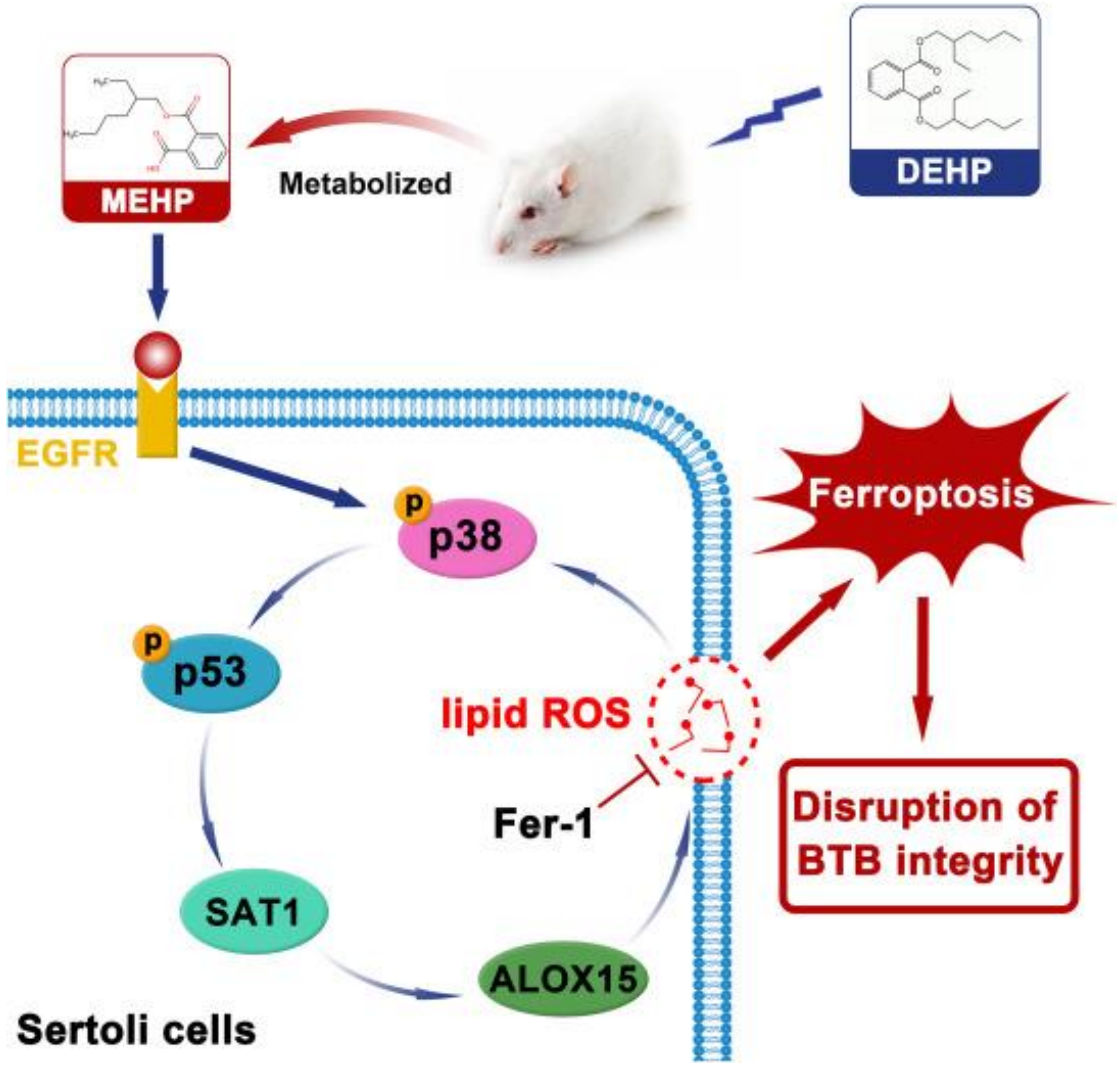


Mediazione di p38alfa ?

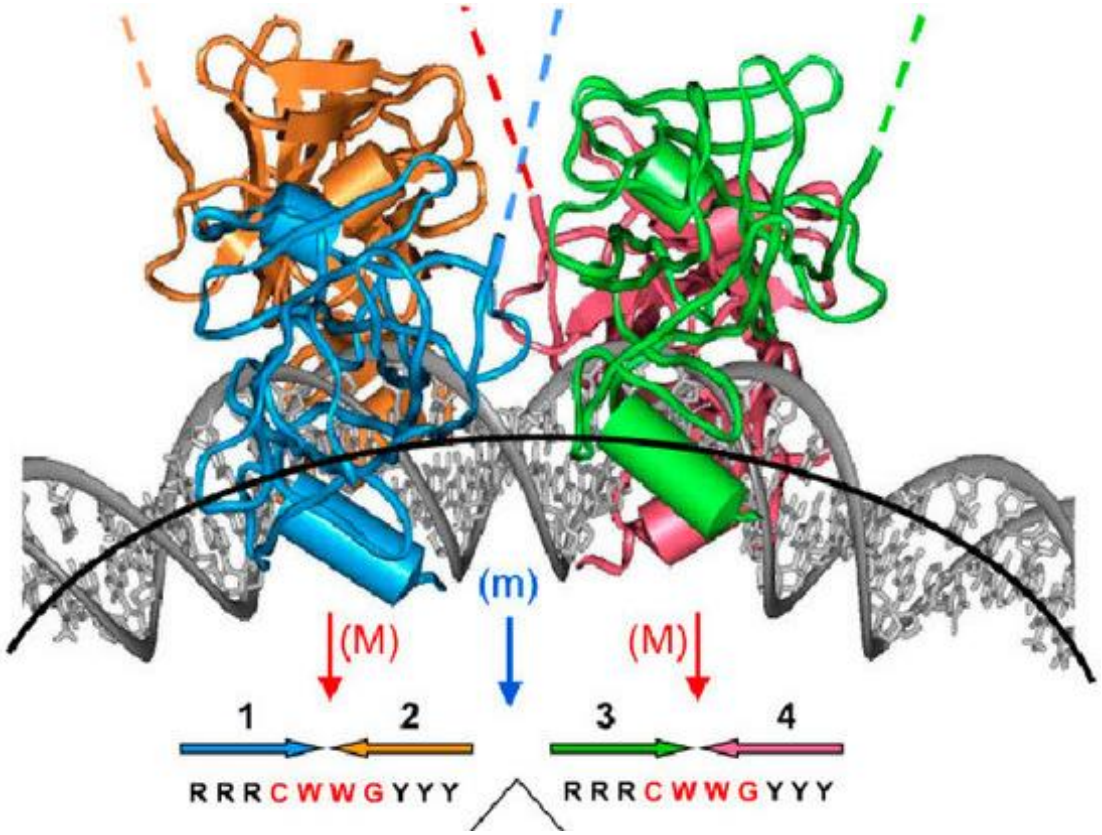

A
ALOX15
p53
p-p53
p38α
p-p38α
β-actin
155 kDa
53 kDa
53 kDa
38 kDa
38 kDa
43 kDa
MEHP - - + +
Fer-1 - + - +
B
Fer-1 MEHP
Relative Intensity
1.5
1.0
0.5
0.0
ALOX15 p53 p-p53 p38α p-p38α
C
Si-Nc + - + -
Si-MAPK14 - + - +
MEHP - - + +
Reduction state
Oxidation state
Merged
100 μm

P38 e ROS ?

In conclusione, gli autori hanno ipotizzato che p38α, attraverso la fosforilazione di p53, possa attivare la via di segnalazione p53-SAT1-AlOX15 e così indurre ferroptosi.



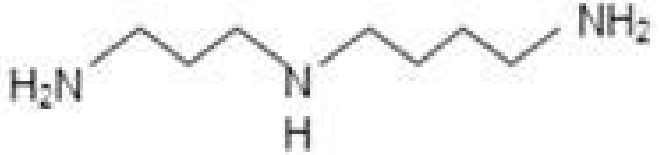
La domanda che resta aperta… può la ferroptosi essere usata come strategia anti-cancro e anti-infertilità?



Putrescina



Spermidina



Spermina



L'esposizione al di (2-etilesil) ftalato (DEHP) è stata associata ad effetti tossici sul sistema riproduttivo. Tuttavia, il meccanismo esatto resta da chiarire. In questo studio abbiamo esplorato la tossicità testicolare indotta dal DEHP e il probabile meccanismo molecolare nel processo.

In vivo, i risultati hanno dimostrato che il DEHP ha influenzato i livelli di testosterone e l'integrità della barriera emato-testicolare (BTB) e ha causato ferroptosi .

Abbiamo inoltre dimostrato che il DEHP aumenta l'espressione di p38α, p-p38α, p53, p-p53, SAT1, ALOX15. Questa visione è stata confermata anche nelle celle TM4. Dopo il pretrattamento con fer-1 o si-MAPK14, l'espressione di p53, p-p53, SAT1 e ALOX15 sovraregolata da MEHP è stata inibita in vitro.

È interessante notare che p38α può prevenire l'accumulo di ROS lipidici e la produzione di ROS lipidici a sua volta promuove l'espressione di p38α, formando così un circuito di feedback durante la ferroptosi.

In questo processo è stato coinvolto un circolo vizioso costituito da p38α, p53, SAT1, ALOX15, ROS lipidici.

Questo studio fornisce nuove intuizioni meccanicistiche sulla tossicità indotta dal DEHP sul sistema riproduttivo.

Grazie dell’attenzione