



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

TITOLO TESI (Italiano)

**Inquinamento atmosferico e DNA mitocondriale della placenta:
intuizioni meccanicistiche e sfide epidemiologiche**

TITOLO TESI (Inglese)

**Air pollution and placental mitochondrial DNA copy number:
Mechanistic insights and epidemiological challenges**

Tesi di laurea di:
Ilaria Nunzi

Docente referente
Chiar.ma Prof.
Francesca Maradonna

Sessione *Autunnale (Dicembre)*

Anno Accademico *2019-2020*

ENVIRONAGE

(ENVIromental influence ON early AGE)

Dal naso e dalla bocca, passando per i polmoni e attraverso il circolo sanguigno, fino alla placenta: questo è il percorso dell'aria e di conseguenza delle polveri sottili con cui può entrare a contatto una donna in gravidanza, fino ad arrivare al feto, causando problemi allo sviluppo.

Negli ultimi anni diversi studi epidemiologici hanno dimostrato che c'è una relazione tra il numero di copie del DNA mitocondriale, gli esiti negativi alla nascita e l'esposizione materna all'inquinamento atmosferico, evidenziando il possibile effetto degli inquinanti sul corretto funzionamento della placenta.

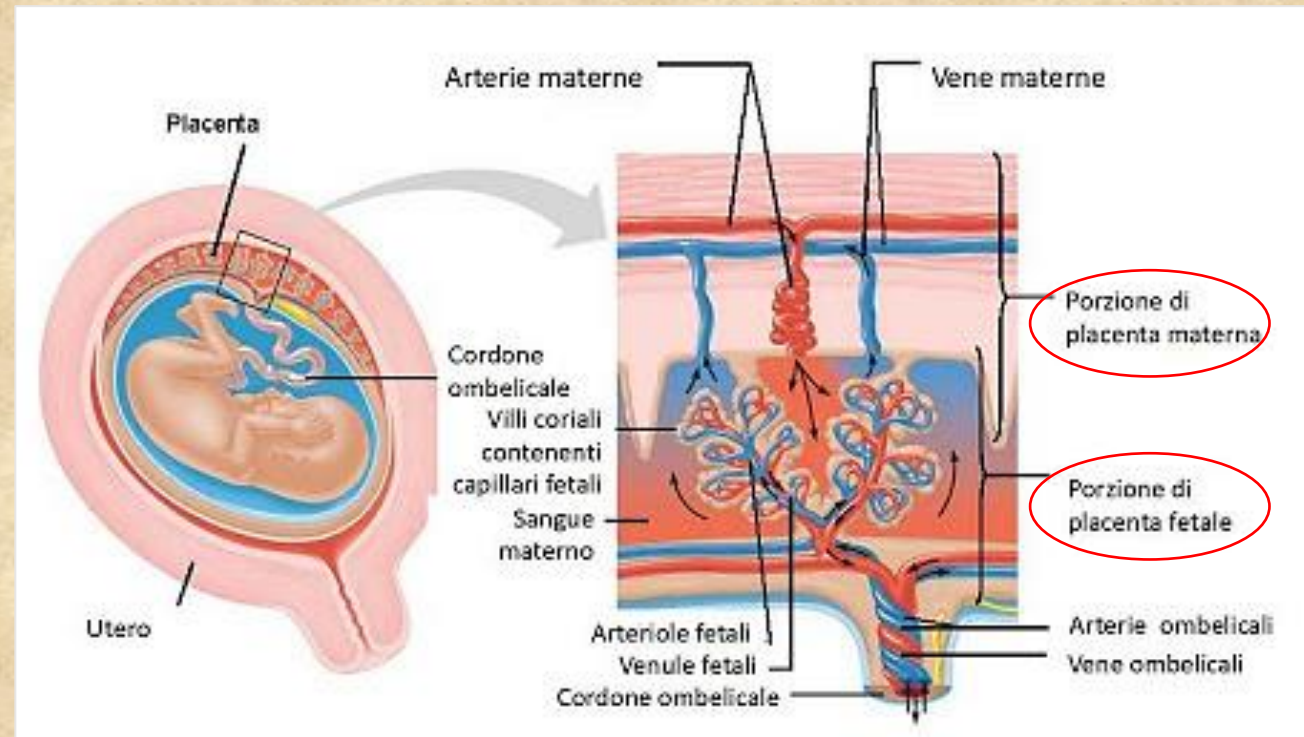
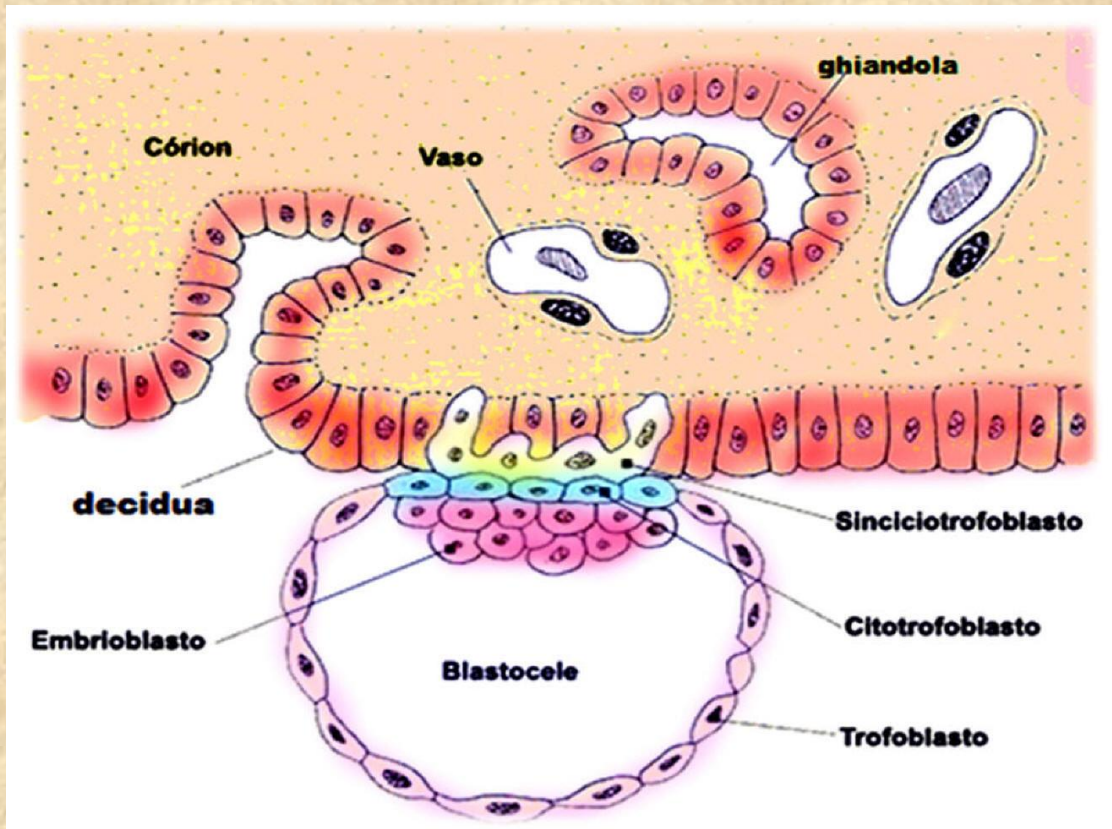


PLACENTA

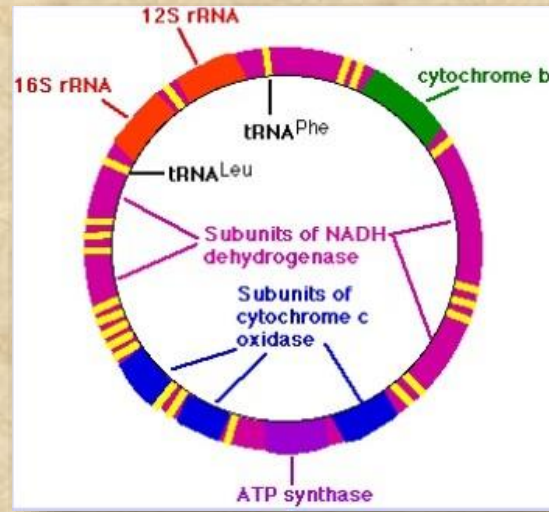
È un organo temporaneo ed è l'unico legame con la mamma per lo scambio di gas e il trasferimento metabolico.

È anche considerato un organo **ENDOCRINO** in quanto produce ormoni come la gonadotropina corionica.

Come si forma?



DNA mitocondriale

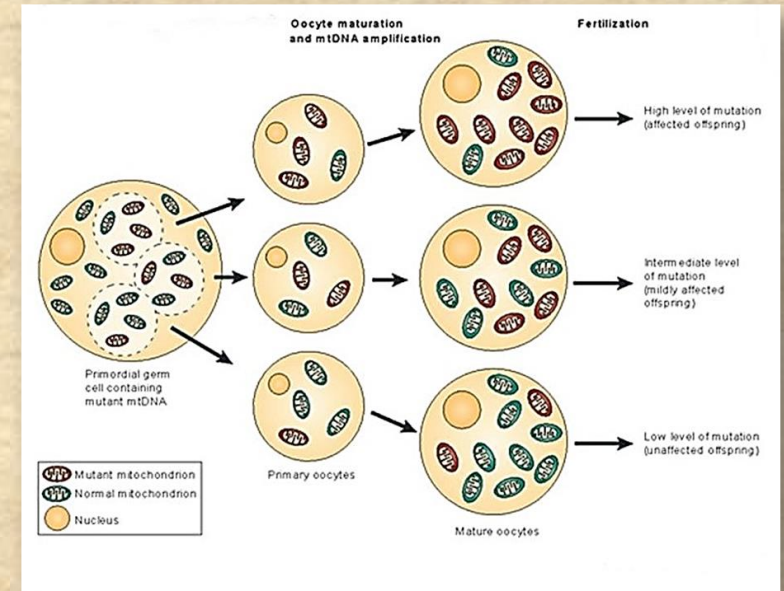
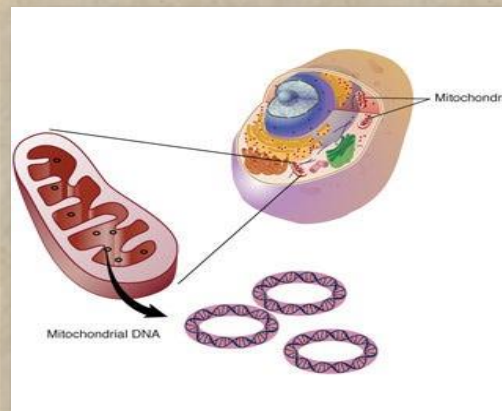


Mutazioni del mtDNA

- Fenomeno dell'eteroplasmia
- *Sindrome di Alpers-Huttenlocker* e di *Pearson*
- Sviluppo compromesso dell'intelligenza infantile
- Particelle ultrafine di inquinanti si accumulano nel mitocondrio causano stress ossidativo e danni alla struttura

Modificazioni morfologiche del mitocondrio

Il mitocondrio appare gonfio con le creste allungate e si dispone al di fuori del fuso mitotico o meiotico, questi cambiamenti sono associati ad un aumento della richiesta di energia.



Ma perché il mitocondrio è bersaglio degli agenti tossici?

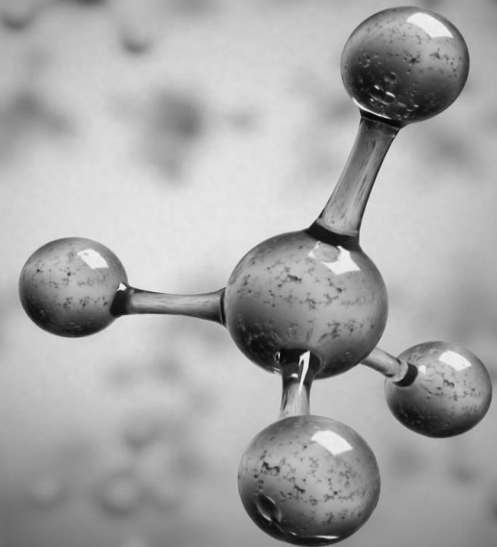


Per la sua struttura

Ma qual è la composizione degli inquinanti dell'aria?

È molto complessa ma i componenti degni di nota sono:

- Il particolato (**PM**)
- L'ozono (**O₃**)
- Il monossido di carbonio (**CO**)
- Il biossido di zolfo (**SO₂**)
- Il biossido di azoto (**NO₂**)



Il Particolato (PM)

Obiettivo

Studiare l'**influenza dell'esposizione al PM₁₀** durante la gravidanza sul mtDNA della placenta e sul sangue del cordone ombelicale

Metodi

Il DNA è stato estratto dal tessuto placentale di **174** donne e dai leucociti di **176** cordoni ombelicali recuperati subito dopo il parto insieme ad altri parametri prenatali e al questionario compilato dalle mamme durante la gravidanza.

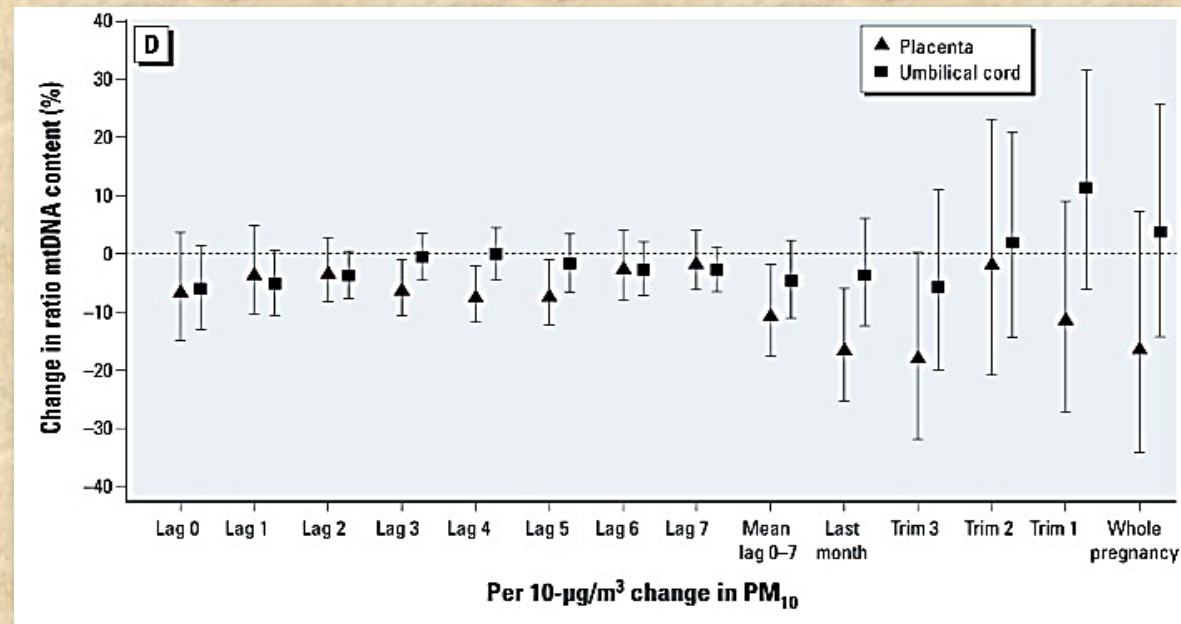
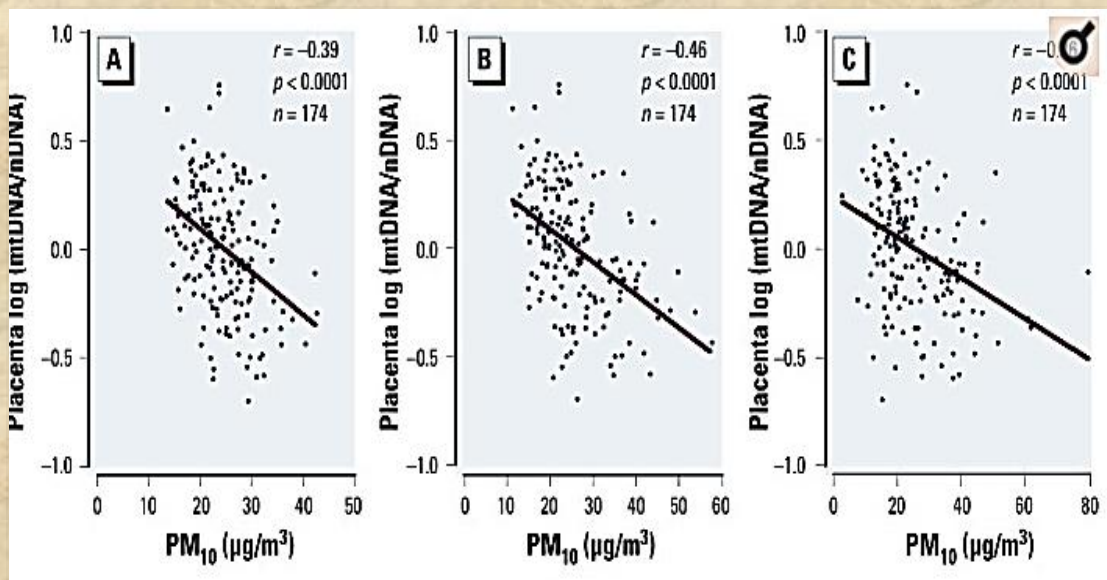
I numeri relativi del mtDNA sono stati determinati dalla **PCR** e poi sono stati utilizzati più **modelli di regressione** per collegare il contenuto del mtDNA e l'esposizione dell'utero al PM₁₀ in varie finestre temporali della gravidanza.

Risultati

L'esposizione al PM₁₀ durante il primo e secondo trimestre di gravidanza non presenta correlazione con il contenuto del mtDNA.

Mentre un incremento di **10 µg/m³** di PM₁₀ durante l'ultimo mese di gravidanza è associato ad una diminuzione del **16%** del contenuto di mtDNA placentare.

Mentre non è stata trovata nessuna associazione tra il sangue del cordone ombelicale e l'esposizione a PM₁₀



Conclusioni

L'esposizione prenatale a PM₁₀ è associata ad **alterazioni mitocondriali** della placenta, che possono influenzare e intensificare la sintesi dello stress ossidativo a causa di un aumento della resistenza della circolazione ombelicale-placentare.

Un altro studio sul Particolato

Obiettivo

Indagare l'adattamento placentare nel **livello di metilazione** globale e l'**espressione genica** differenziale nel ciclo di metilazione dei neonati esposti al particolato nello stato fetale.

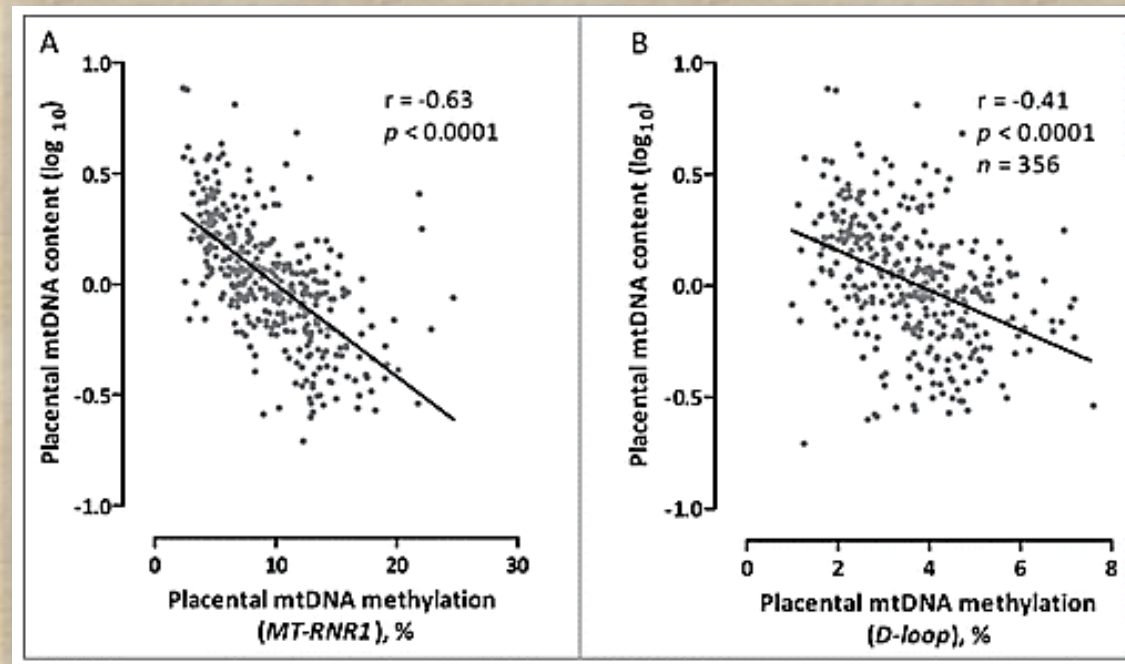
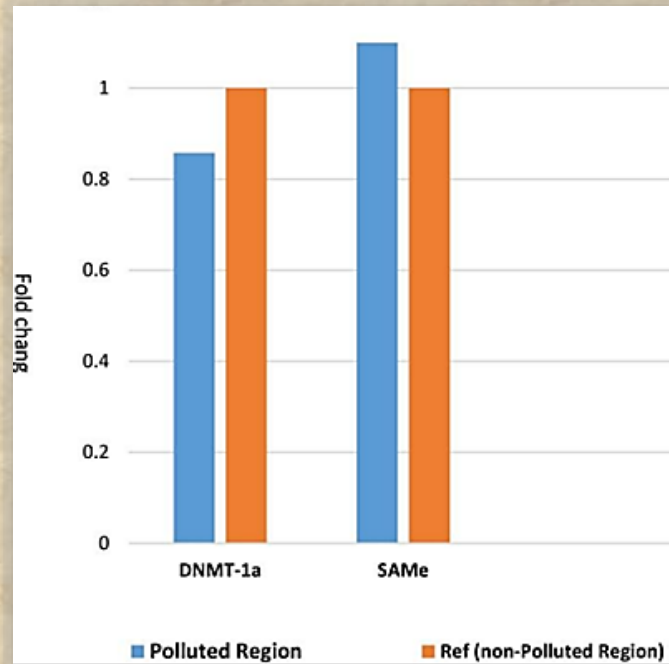
Metodi

Sono state studiate **100** donne sane in gravidanza provenienti da regioni inquinate e non inquinate. Al momento del parto è stato preso il tessuto placentare per l'analisi dell'espressione genica e della metilazione del DNA quindi è stato estratto l'**RNA** che è stato processato tramite **PCR**.

Risultati

Ci sono correlazioni positive sia per il PM₁₀ che per il PM_{2,5} nel primo trimestre nei livelli di metilazione globale del DNA placentare.

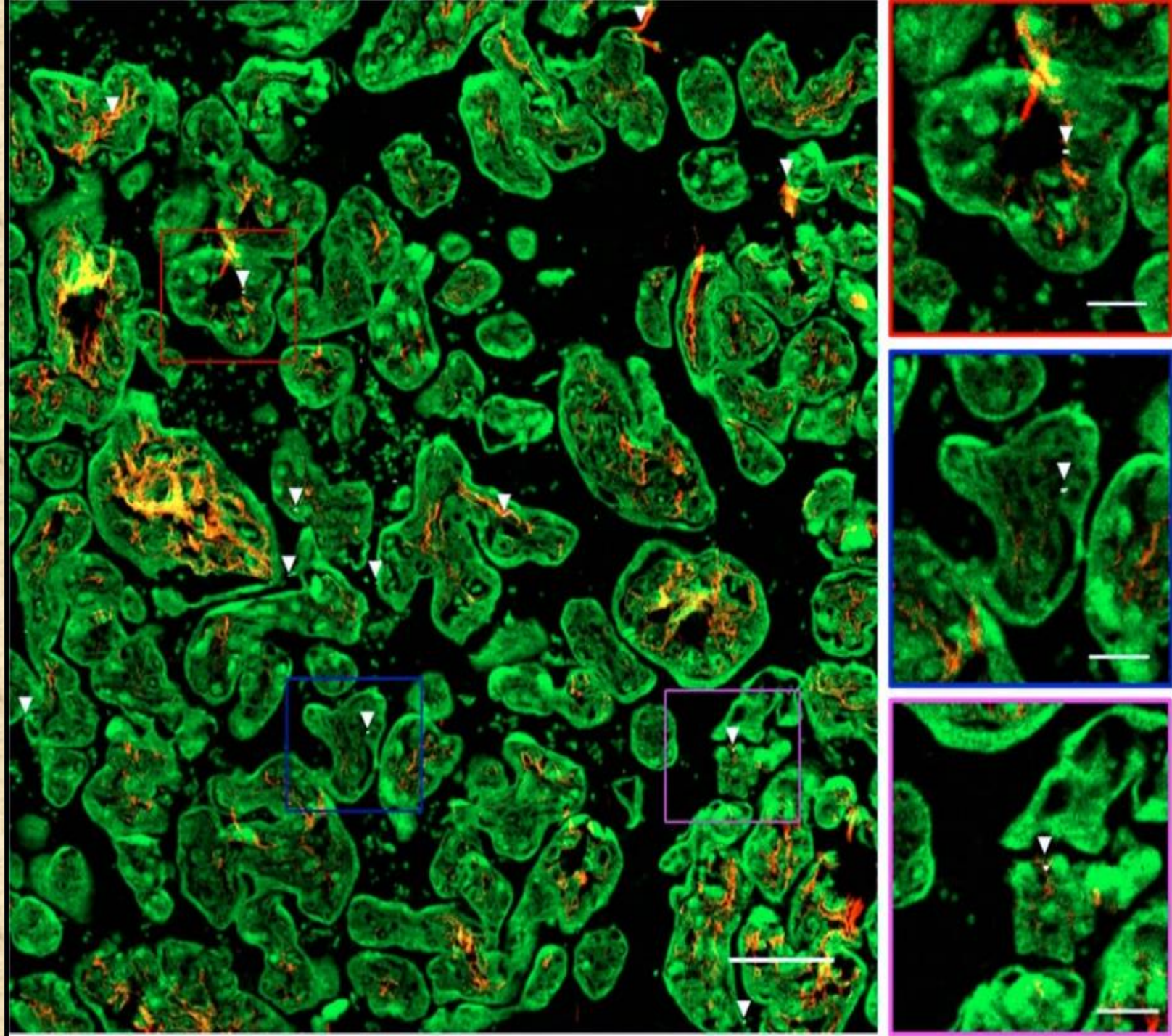
La quantità di geni è simile in tutti i campioni mentre ci sono **correlazioni negative** nei livelli di **metilazioni dei geni** nelle donne che vivono nelle regioni inquinate.



Conclusioni

L'esposizione prenatale agli inquinanti e in particolare, al particolato nel primo trimestre può influenzare l'adattamento placentare mediante la metilazione del DNA.

Campioni di placenta analizzati con una tecnica particolare, che prevede di illuminare il tessuto con il laser e rendere fluorescenti le sostanze con una particolare lunghezza d'onda



Biossido di azoto (NO₂)

Obiettivi

Verificare se il **contenuto del DNA mitocondriale** placentare è un possibile **mediatore** tra l'**esposizione** prenatale al biossido di azoto e il **peso** alla nascita

Metodi

Sono stati utilizzati i dati ricavati da due coorti indipendenti europee (INMA e ENVIRONAGE) dove il loro relativo contenuto di mtDNA placentare è stato determinato come rapporto tra due geni mitocondriali e due geni di controllo nucleari mediante la **PCR**. Mentre i dati delle due coorti sono stati calcolati usando la regressione multipla lineare.

Risultati

Un incremento di $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ di NO_2 durante la gravidanza è stato associato ad una diminuzione del **4.9%** del contenuto del mtDNA placentare e una diminuzione di **47,5 g** del peso alla nascita.

C'è una correlazione tra il contenuto del mtDNA placentare e il sesso del nascituro.

Table 4

Association between prenatal NO_2 exposure and birth weight in INMA, ENVIRONAGE, and in the pooled sample.

Pregnancy period	Differences in birth weight (g) (95% CI)	p-Value
INMA (n = 376)^{a,b}		
Trimester 1	-56.2 (-94.5, -17.8)	0.004
Trimester 2	-56.3 (-96.2, -16.4)	0.006
Trimester 3	-52.1 (-93.8, -12.5)	0.01
Entire pregnancy	-66.4 (-111.0, -22.7)	0.004
ENVIRONAGE (n = 550)		
Trimester 1	-20.0 (-91.3, 51.3)	0.58
Trimester 2	-3.4 (-76.4, 69.5)	0.93
Trimester 3	-29.9 (-98.2, 38.3)	0.39
Entire pregnancy	-19.8 (-101.1, 61.7)	0.63
INMA + ENVIRONAGE (n = 926)^c		
Trimester 1	-44.1 (-77.4, -10.8)	0.01
Trimester 2	-36.2 (-70.9, -1.6)	0.04
Trimester 3	-37.5 (-71.4, -3.6)	0.03
Entire pregnancy	-47.5 (-86.6, -8.5)	0.02

Table 5

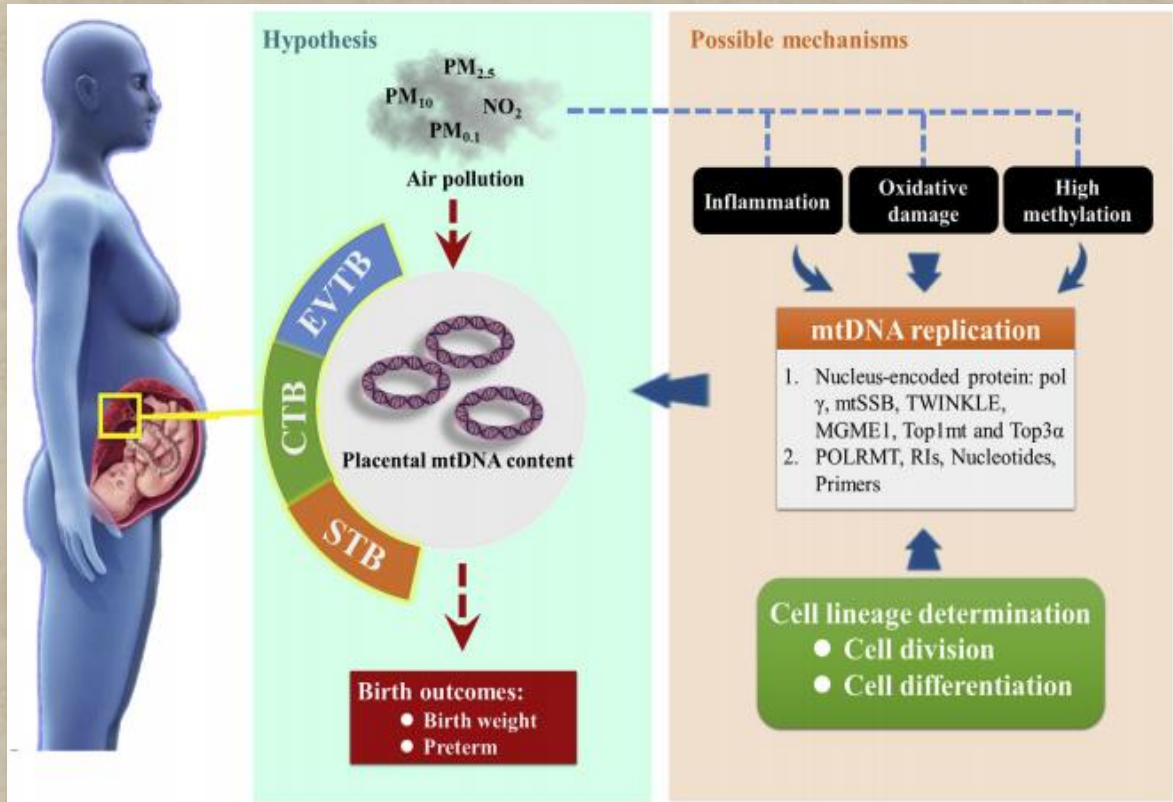
Association between placental mtDNA content and birth weight (g) in INMA, ENVIRONAGE, and in the pooled sample.

	INMA^{a,b}				ENVIRONAGE				INMA + ENVIRONAGE^c			
	n	Differences in birth weight (g) (95% CI)	p-Value	Interaction p-value	n	Differences in birth weight (g) (95% CI)	p-Value	Interaction p-value	n	Differences in birth weight (g) (95% CI)	p-Value	Interaction p-value
All	376	249.0 (83.6, 414.3)	0.003	0.003	550	129.2 (7.8, 259.0)	0.04	0.04	926	140.2 (43.2, 237.2)	0.005	0.009
Boys	194	124.0 (45.6, 202.5)	0.002	NA	277	34.0 (-34.4, 102.4)	0.33	NA	471	65.9 (17.9, 114.0)	0.007	NA
Girls	182	-2.44 (-80.5, 75.6)	0.95	NA	273	-15.2 (-69.3, 39.0)	0.58	NA	455	26.4 (-67.4, 14.6)	0.21	NA

Conclusioni

I risultati suggeriscono che il contenuto di mtDNA può essere un **potenziale marcatore** dell'associazione tra l'esposizione prenatale all'inquinamento atmosferico e il peso alla nascita.

Conclusioni



Intuizioni per il futuro

