



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE
MARCHE

**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E
DELL'AMBIENTE**

*“Embrione umano da fecondazione in vitro: autoorganizzazione durante
l'impianto”*

“Self-organization of the in vitro attached human Embryo”

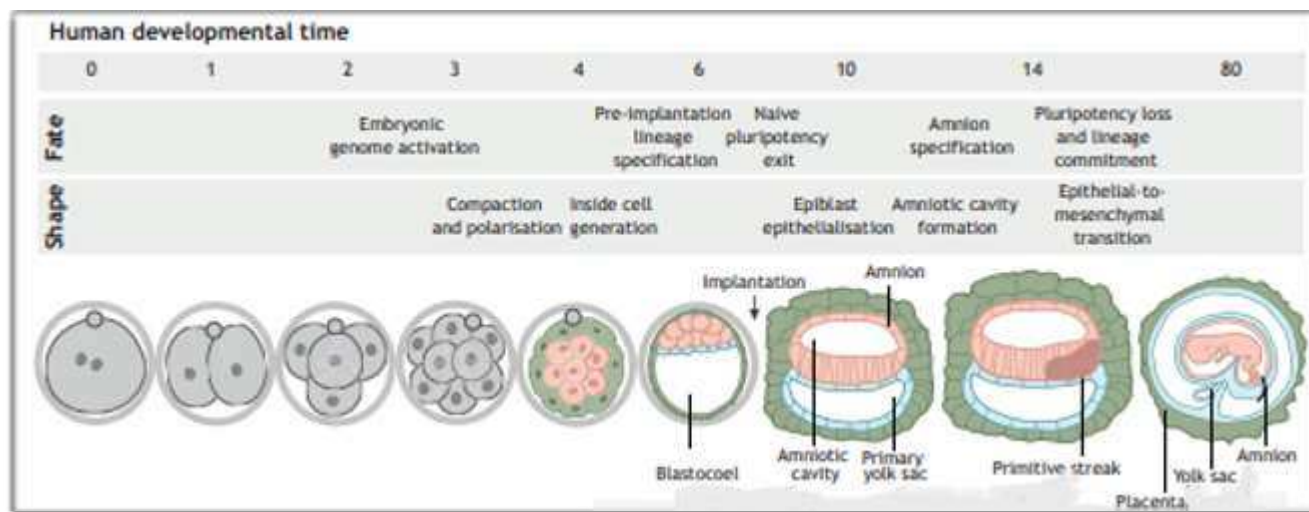
Tesi di Laurea di:
Gaetana Lamacchia

Docente Referente
Chiar.ma Prof.ssa:
Oliana Carnevali

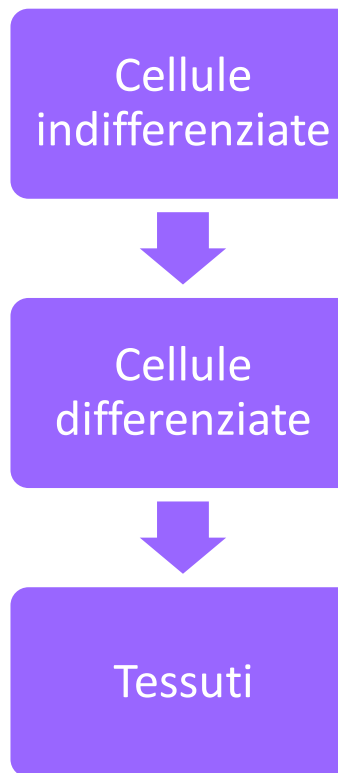
Sessione Autunnale
Anno Accademico 2022/2023

“MECCANISMI DI SVILUPPO DELL’EMBRIONE UMANO: DAL DESTINO CELLULARE ALLA FORMA DEI TESSUTI”

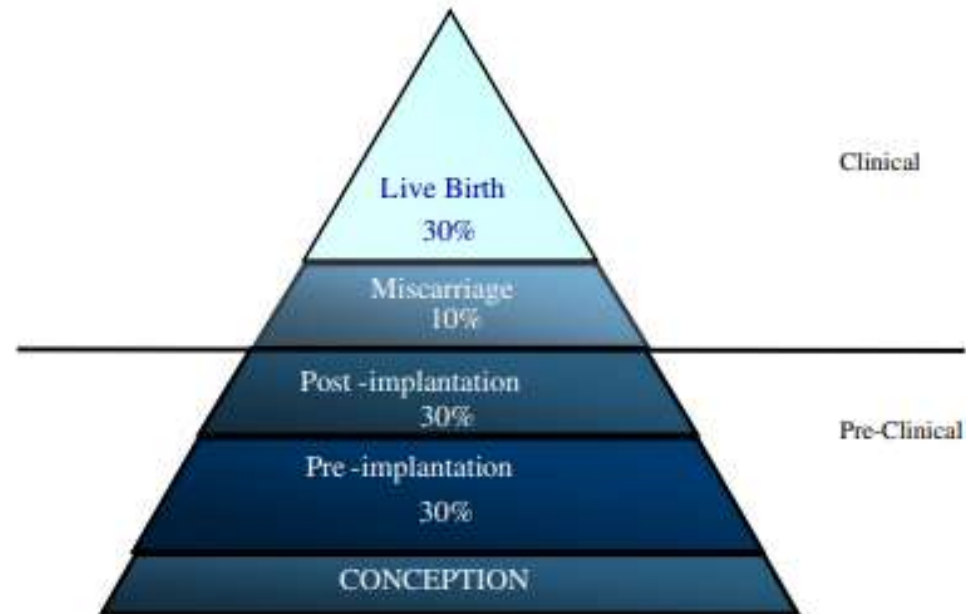
Publicato da The Company of Biologists Ltd | Sviluppo (2020) 147, dev190629. doi:10.1242/dev.190629



Panoramica dello sviluppo dell'embrione umano



QUANDO LE COSE VANNO MALE: ANEUPLOIDIE E ABORTI



Larsen, E. C., Christiansen, O. B., Kolte, A. M. and Macklon, N. (2013). New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med* 11, 154. doi:10.1186/1741-7015-11-154

SELF-ORGANIZATION OF THE IN VITRO ATTACHED HUMAN

Alessia Deglincerti¹ *, Gist F. Croft¹ *, Lauren N. Pietila¹ , Magdalena Zernicka-Goetz² , Eric D. Siggia³ & Ali H. Brivanlou¹
doi:10.1038/nature17948

OBIETTIVI:

Osservare la
capacità di
auto-
organizzazione
e l'autonomia
dello sviluppo
embrionale;

Evidenziare la
specie-
specificità
degli eventi e
firme
molecolari
specifiche;

Stabilire un
nuovo sistema
modello per la
perdita
precoce della
gravidanza

METODICA:

- ❖ Una coltura cellulare che simulasse la parete dell'utero, in modo che l'embrione vi potesse attecchire;
- ❖ È stata monitorata la morfologia e l'espressione dei marcatori specifici negli embrioni pre e post-attaccamento:
 - marcatori della massa cellulare interna(ICM) e di epiblasto OCT4 e NANOG
 - i marcatori della massa interna(ICM) e dell'endoderma primitivo (pe) GATA6
 - i marcatori del trofoectoderma (te) CDX2 e GATA3;
- ❖ Gli embrioni venivano fissati e colorati a giorni alterni a partire dal giorno successivo post fecondazione (dpf)6 colorato con -gamma, diamidino -fenilindolo (DAPI) per rilevare e contare i nuclei e falloidina per delineare i confini cellulari.

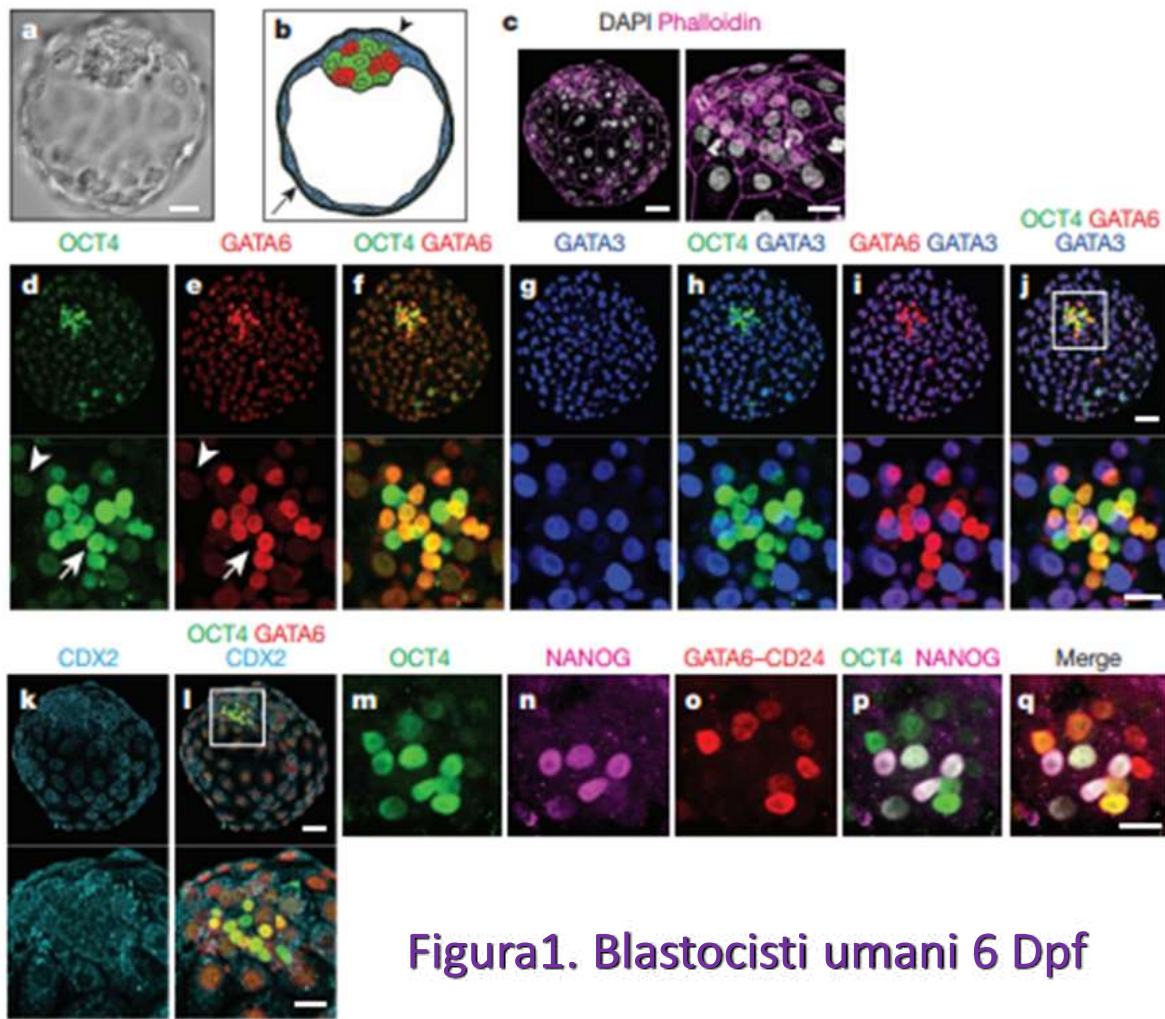
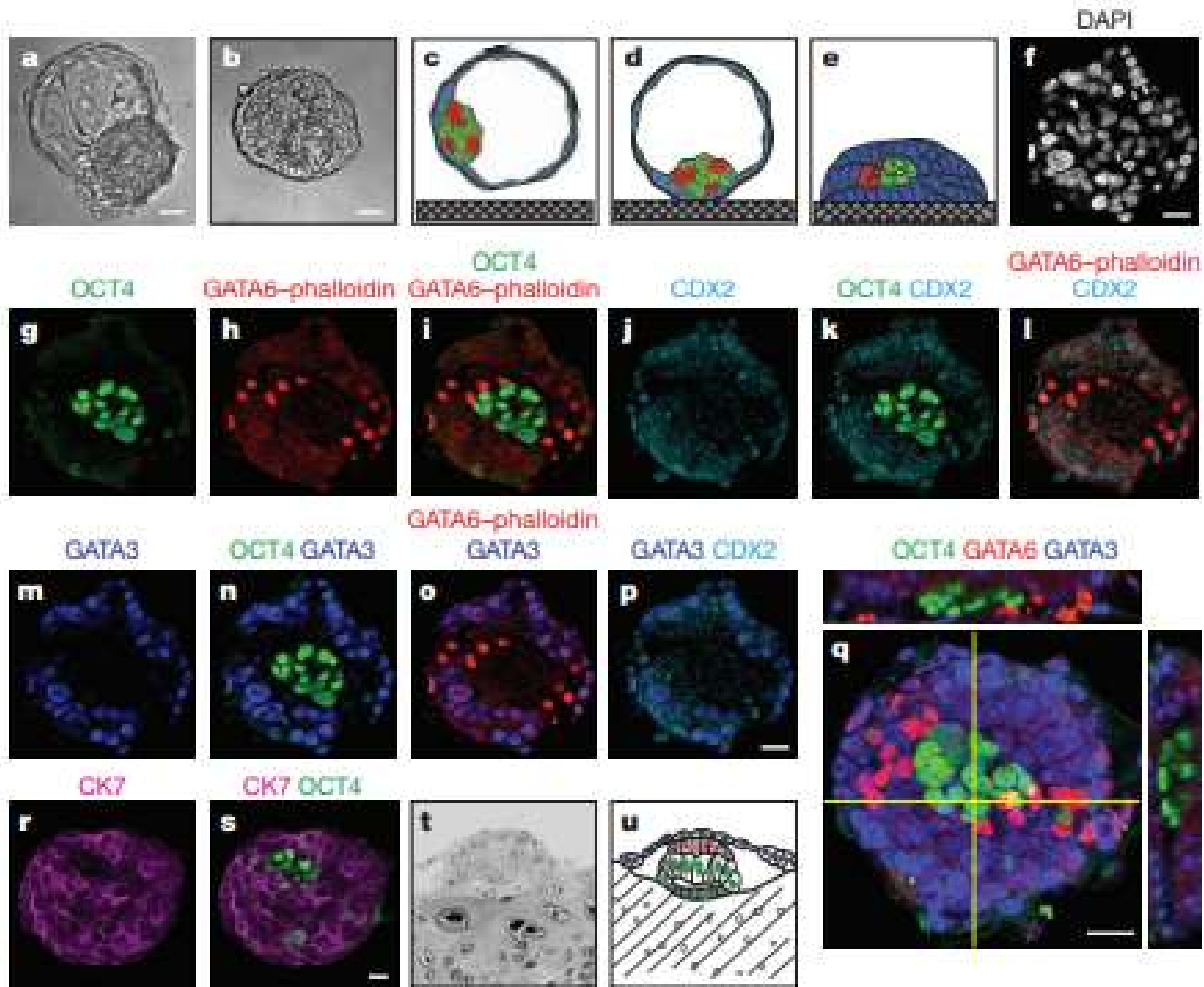


Figura1. Blastocisti umani 6 Dpf

La blastocisti ha una struttura cellulare complessa, costituita da 200 cellule fig. 1 a-c

- D-F: massa cellulare interna (ICM) mostrano colorazione OCT4 con sottoinsieme GATA6
- M-Q: nelle cellule ICM OCT4 osservato NANOG
- G-J: nuclei delle cellule trofoectoderma (TE) colorati per GATA3, OCT4 E GATA 6
- K-L: in TE livelli variabili CDX2. segnale localizzato nel citoplasma

Figura 2 -> Embrioni umani 8 dpf



- A-B : blastocisti dpf 6-7 ancorano al substrato
- G-I: nella massa cellulare interna (ICM) sono emersi due territori che formano i lignaggi epiblasto (Epi) e endoderma primitivo (PE)
- 2J-L: CDX2 a livelli basali
- M-Q: GATA3 delimitava tutti i nuclei
- R-S le cellule GATA3 mostrano colorazione per CK7

- A-C : Embrioni al 10 dpf aumentano di dimensione
- D-H : si osserva la cavità amniotica
- V-W: CD24 sulle cellule Epi
- C-P: cellule GATA6 delineano disco bi-laminare
- I-P : autoorganizzazione della cavità del sacco vitellino.
- Q-U: il trofoectoderma (TE) è stato colorato con CK7.
- X-Y: si visualizza cavità amniotica e del sacco vitellino, disco bi-laminare e differenziazione del TE

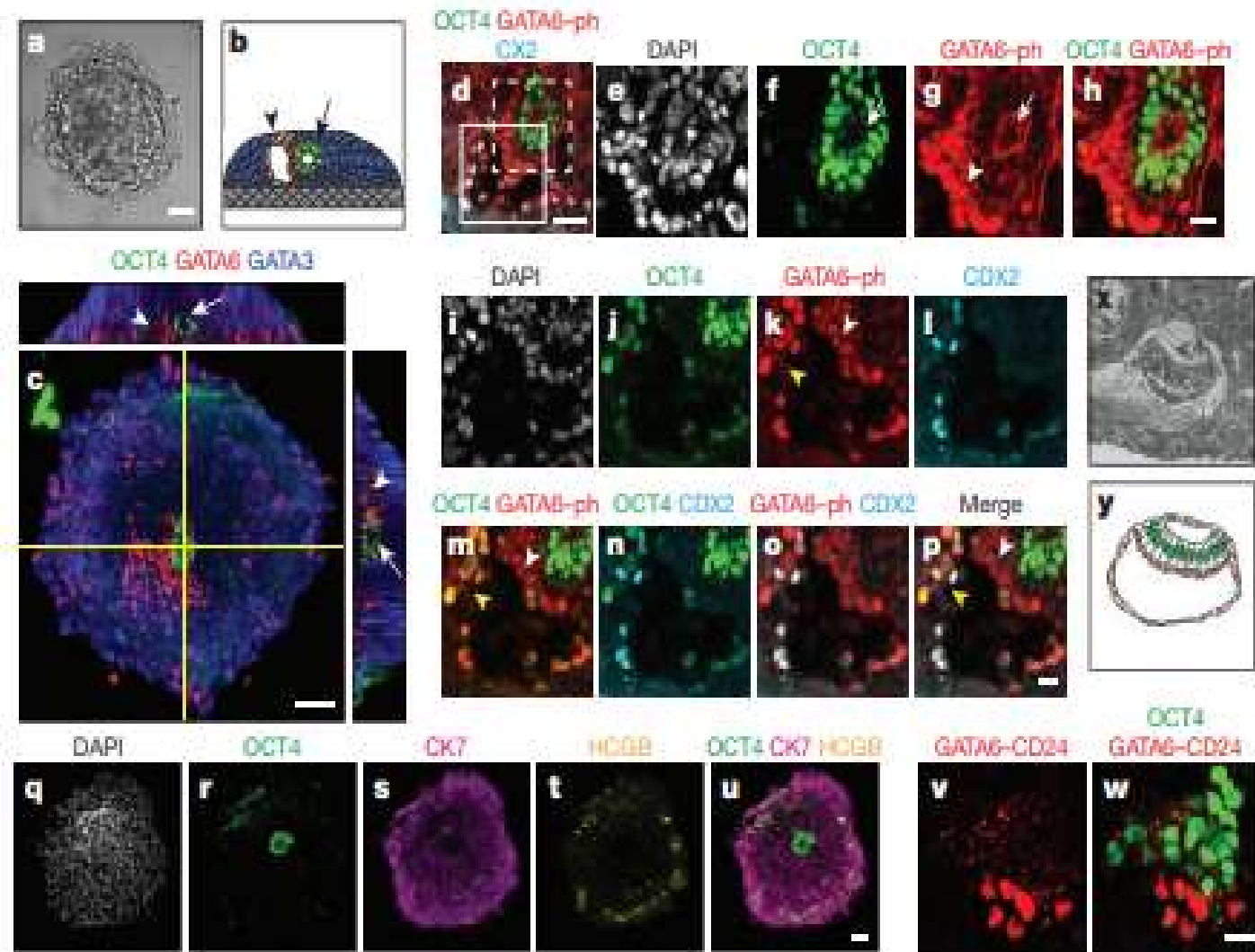
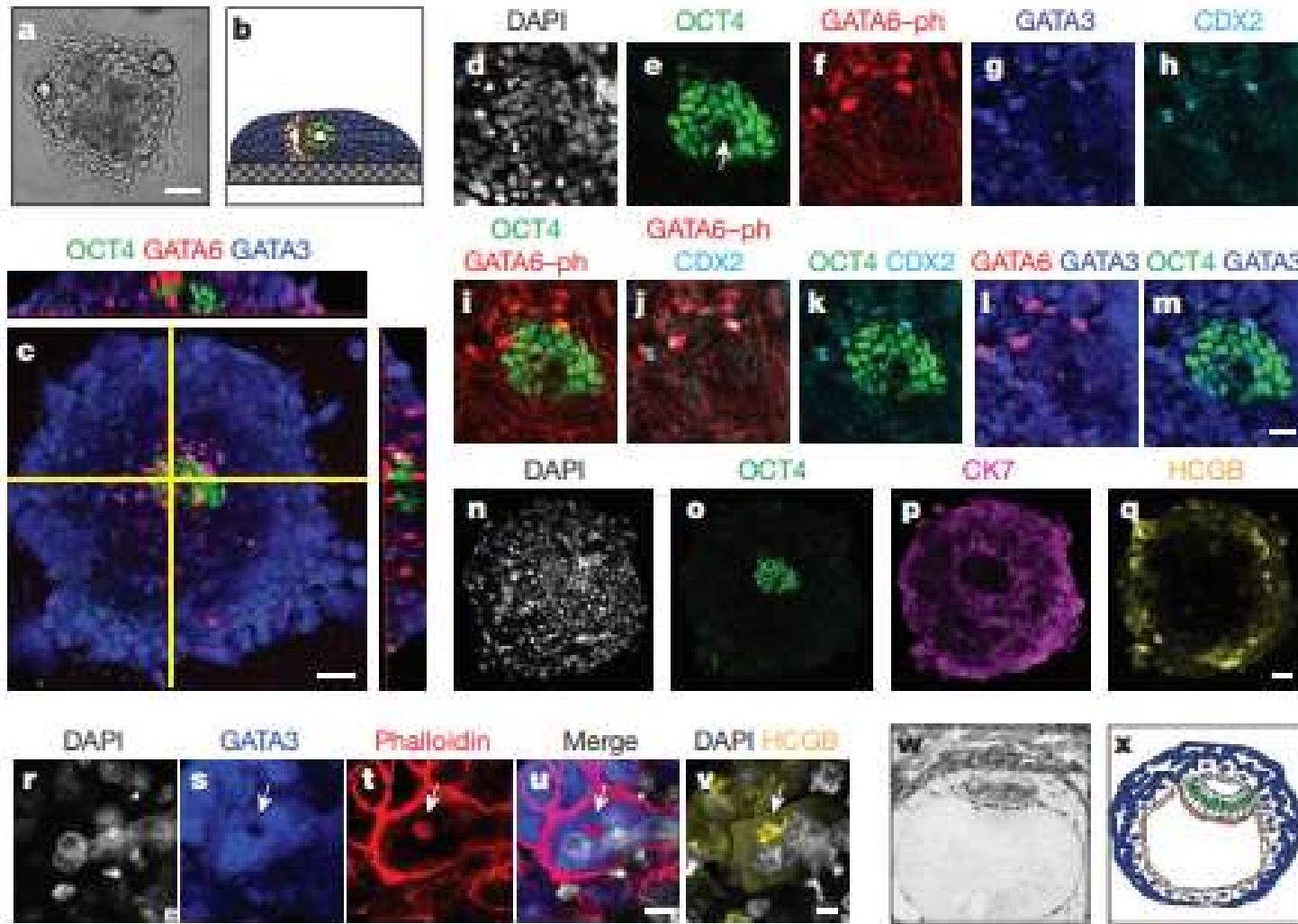


Figura 3 -> Embrioni umani dpf 10

Figura 4 -> Embrioni umani dpf 12



- A-L: cavità amniotica e del sacco vitellino presenti ma collassate
- N-Q: TE mostra una ulteriore differenziazione.
- R-V: TE auto-organizzato in anello concentrico

CONCLUSIONI

Fornendo un substrato di attaccamento, le blastocisti umane si auto-organizzano indipendentemente dall'input materno almeno fino a dpf 12.

Si evidenzia la specie-specificità degli eventi

Un nuovo sistema modello per una serie di disturbi placentari ed embrionali poco conosciuti e per la perdita precoce della gravidanza.

Grazie per l'attenzione.

Riassunto esteso

A partire da cellule indifferenziate, progressivamente, molteplici tipi di cellule destinate a svolgere funzioni specifiche si differenziano organizzandosi in diverse configurazioni portando all'emergere di tessuti con forma definita e specifica. La comprensione dei meccanismi dello sviluppo umano è fondamentale per affrontare un importante problema clinico: la notevole inefficienza della riproduzione umana. L'impianto della blastocisti è una pietra miliare nello sviluppo embrionale dei mammiferi. La diversificazione del lignaggio, specificazione del destino cellulare e movimenti morfogenetici stabilisce quelli che sono i tessuti embrionali e determina le condizioni necessarie affinché la gastrulazione e la gravidanza abbiano successo. Nonostante i sistemi modello siano una finestra sulla biologia molecolare del destino cellulare e della forma dei tessuti, gli studi sul nostro sviluppo sono stati finora impegnativi dal punto di vista tecnico ed etico. È stato osservato come si sviluppa la vita umana nei suoi primi tredici giorni verificando la capacità di auto-organizzazione e l'autonomia dello sviluppo embrionale, evidenziando la specie-specificità degli eventi e firme molecolari specifiche e stabilendo un nuovo sistema modello per la perdita precoce della gravidanza