



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
Scienze Biologiche

AUTO-ORGANIZZAZIONE NELLA FASE DI IMPIANTO DELL'EMBRIONE UMANO
OTTENUTO IN VITRO

SELF-ORGANIZATION OF THE IN VITRO ATTACHED HUMAN EMBRYO

Tesi di Laurea di:

Martina Addante

Docente Referente

Chiar.mo Prof.

Oliana Carnevali

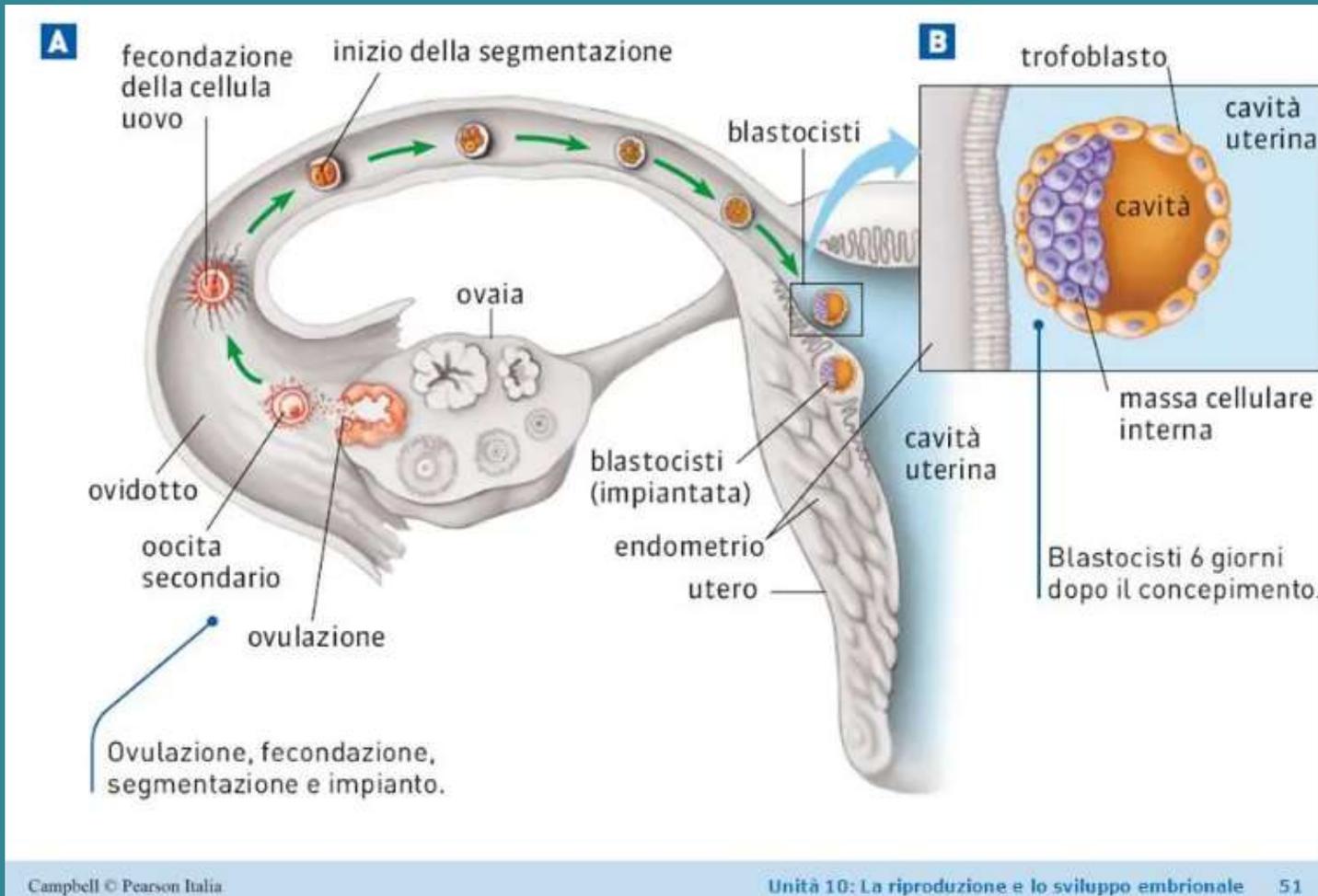
Sessione Estiva

Anno Accademico 2023/2024

Lo sviluppo embrionale

Fasi dello sviluppo embrionale:

- Ovulazione
- Fecondazione della cellula uovo
- Inizio della segmentazione
- Blastocisti
- Impianto



OBIETTIVI

Esplorare lo sviluppo post-impianto dell'embrione umano utilizzando il sistema in vitro



Individuare le varie linee cellulari durante le prime fasi dello sviluppo embrionale umano



Comprendere le cause della perdita precoce in gravidanza

METODI

Per comprendere la capacità di auto-organizzazione degli embrioni umani, viene utilizzata una piattaforma di impianto.

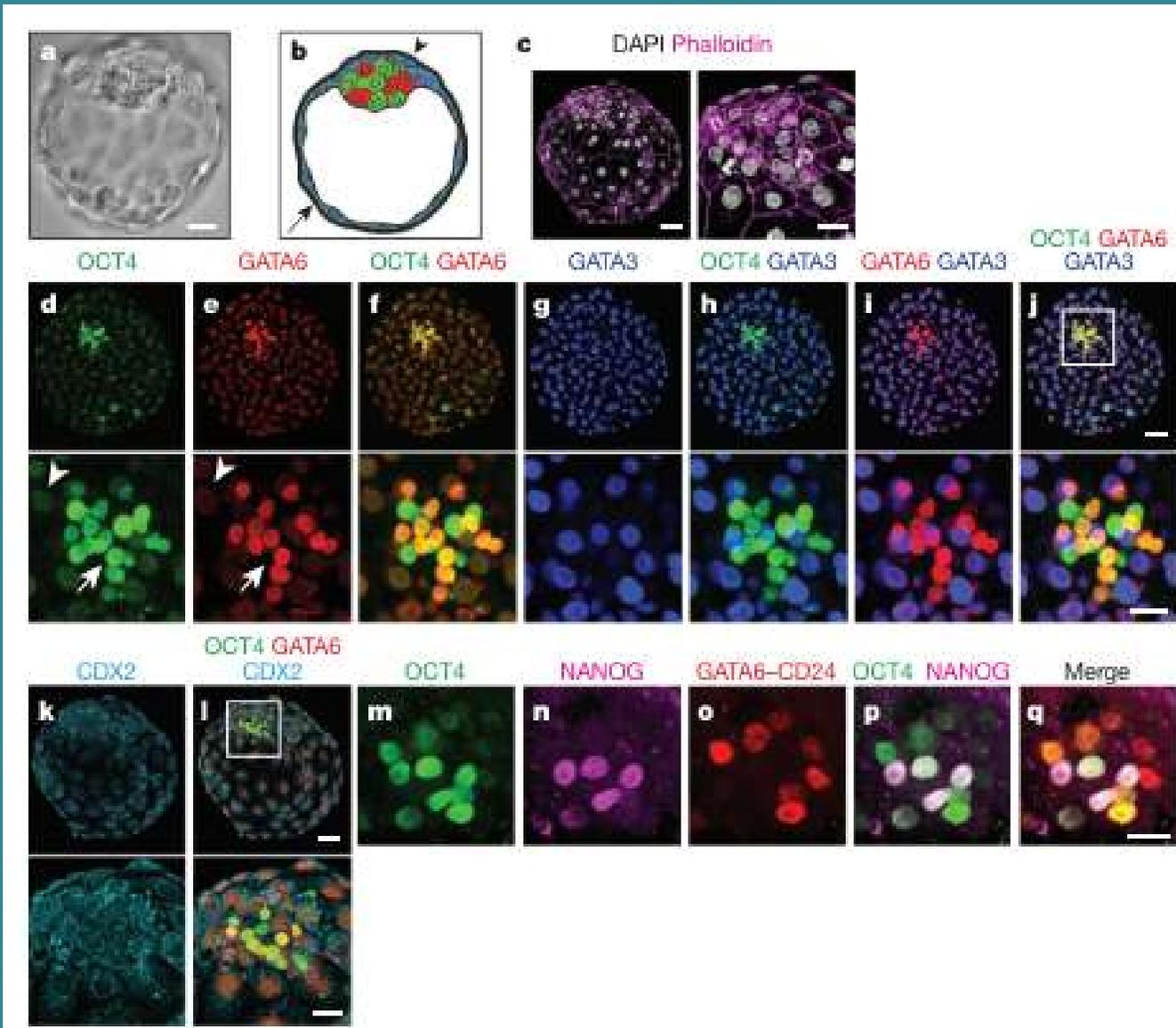
Si è osservata la morfologia e l'espressione di marcatori specifici negli embrioni pre e post impianto:

- marcatori della massa cellulare interna (ICM) e epiblasto OCT4 e NANOG
- marcatori della massa cellulare interna (ICM) e endoderma primitivo (pe) GATA6
- marcatori trofettodermici (TE) CDX2 e GATA3

Dopodiché gli embrioni vengono fissati e colorati dal 6 giorno post fertilizzazione e tramite DAPI per contare i nuclei, mentre viene utilizzata la folloidina per delineare i confini cellulari

Blastocisti umana a 6 dpf

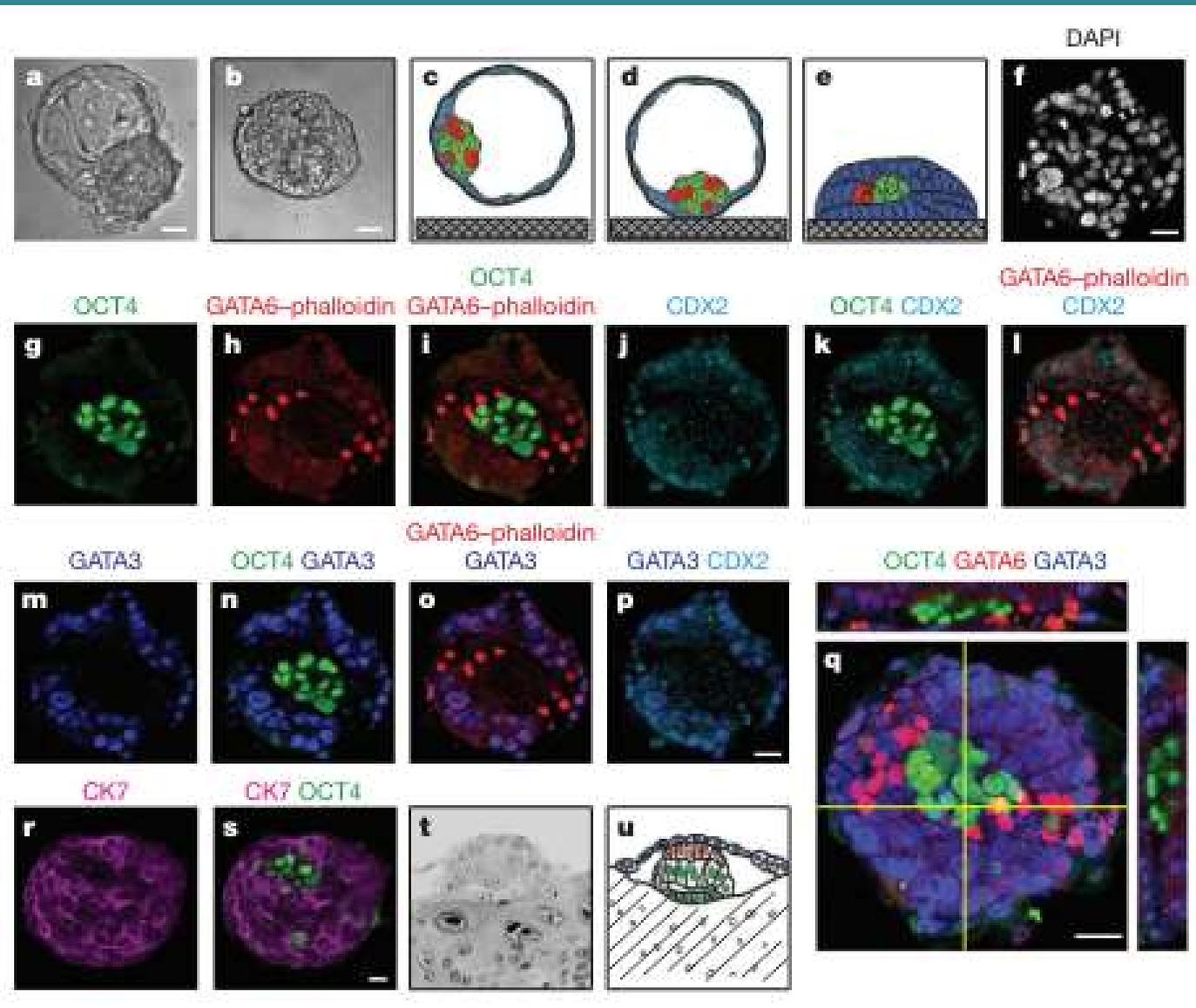
Si può notare come dopo 6 giorni dalla fecondazione, ci sono segnali che vengono utilizzati per identificare specifici marcatori cellulari: ICM esprimono marcatori di pluripotenza (OCT4 e GATA6) e il TE che esprime marcatori trofoblastici (CDX2 e GATA3)



Embrioni umani 8 dpf

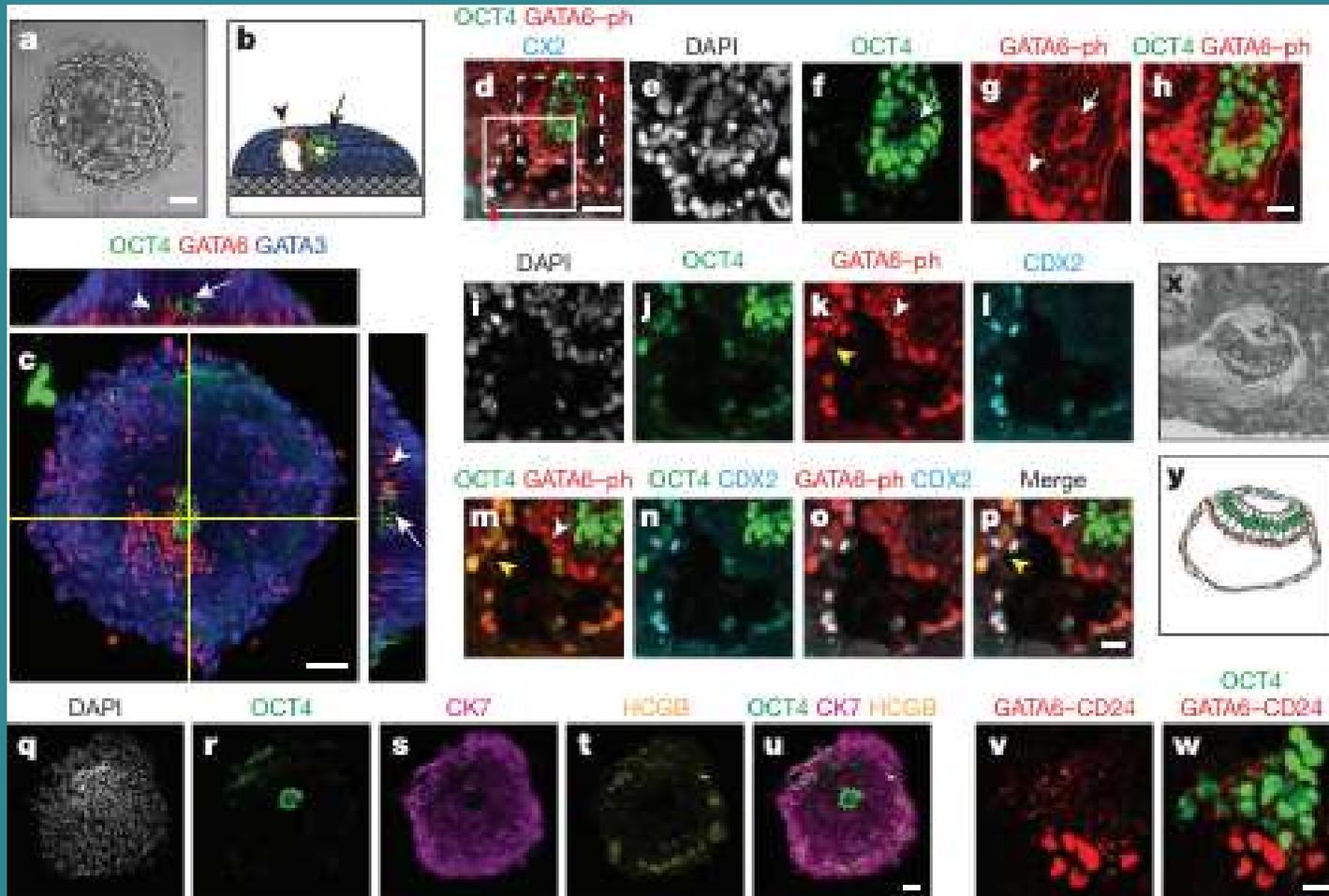
Si può notare come dopo 8 giorni dalla fecondazione, si osserva una struttura appiattita, le cellule dell'embrione umano iniziano a organizzarsi e differenziarsi in vari tipi cellulari. Mediante microscopio confocale si può notare la disposizione delle diverse linee cellulari ad esempio:

- OCT4 per l'epiblasto
- GATA6 per l'endoderma primitivo

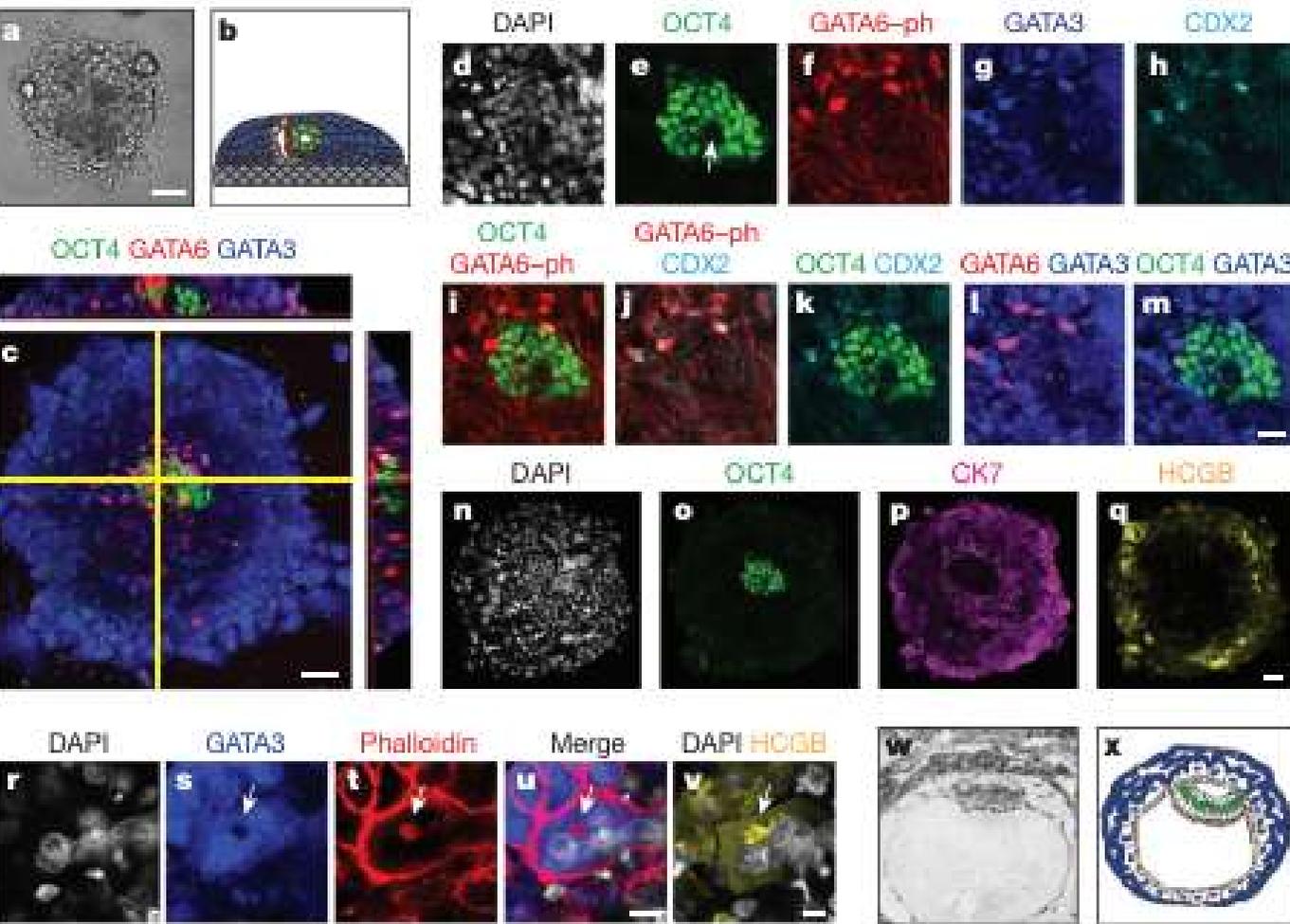


Embrioni umani a 10 dpf

Si può notare come 10
giorni dopo la
fecondazione, le cellule
del trofoblasto e
dell'endoderma primitivo
si organizzano in modo da
formare la cavità
amniotica e il sacco
vitellino



Embrioni umani 12 dpf



Si può notare come 12 giorni dalla fecondazione, tramite marcatori specifici vengono identificati e localizzati questi tipi di cellule:

- **Epiblasto (EPI):** identificato dal marcatore OCT4
- **Endoderma primitivo (PE):** identificato da GATA6
- **Trofoblasto (TE) e Trofoblasto del sacco vitellino (ysTE):** identificati da GATA3 e CDX2.

CONCLUSIONI

Gli embrioni umani coltivati in vitro mostrano capacità di auto-organizzazione, simili a quelle osservate negli embrioni in vivo



I risultati forniscono una nuova comprensione dello sviluppo embrionale umano precoce oltre lo stadio della blastocisti



Il sistema in vitro, rappresenta un nuovo modello per studiare le fasi iniziali della gravidanza umana e le cause della perdita precoce legate esclusivamente alla qualità embrionale

RIASSUNTO ESTESO

Questo articolo condotto allo scopo di dimostrare che gli embrioni umani possono svilupparsi in modo simile a come farebbero nel corpo materno, anche se coltivati in laboratorio su un substrato che favorisce l'adesione, quindi *in vitro*. Lo studio è stato condotto fino a 12 giorni post-fecondazione. La comprensione di questi eventi negli esseri umani è limitata, quindi per questo approccio viene utilizzato come modello sperimentale, il topo. Si è visto che gli embrioni hanno un andamento normale ed è possibile notare ciò dall'espansione dell'epiblasto, la segregazione delle linee cellulari, la formazione del disco bi-laminare, la cavitazione del sacco amniotico e del sacco vitellino, e la diversificazione del trofoblasto. Questo approccio è un primo passo per lo studio dell'arresto precoce della gravidanza. I risultati ottenuti sono fondamentale per capire meglio lo sviluppo embrionale dei mammiferi. Inoltre l'ottimizzazione del metodo adottato in questo studio potrà aiutare i ricercatori a sviluppare metodi per differenziare le cellule staminali embrionali umane, da utilizzare in terapie cellulari per trattare varie patologie.

BIBLIOGRAFIA

- Deglincerti, A., Croft, G., Pietila, L. et al. Self-organization of the in vitro attached human embryo. Nature 533, 251–254 (2016).
<https://doi.org/10.1038/nature17948>
- <https://biomedicalcue.it/medicina-rigenerativa-prim-embrioni-umani-sintetici/29943/>
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25516964/>

