

# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

**TITOLO: STUDIO DELL'INTEGRITÀ CROMATINICA DEL GAMETE  
MASCHILE IN MODELLI UMANI E SPERIMENTALI**

**COFINANZIAMENTO TOTALE : 261.600 Euro**

**Coordinatore scientifico del Programma di Ricerca Andrea Lenzi**

## **4 Unità di Ricerca**

<b>UO Baldi E.</b>	<b>Università degli Studi</b>	<b>di Firenze</b>
<b>UO Boitani C.</b>	<b>Università degli Studi</b>	<b>di Roma “ La Sapienza “</b>
<b>UO Gandini L.</b>	<b>Università degli Studi</b>	<b>di Roma “ La Sapienza “</b>
<b>UO Lenzi A.</b>	<b>Università degli Studi</b>	<b>di Roma “ La Sapienza “</b>

# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

## Studio dell'integrità cromatinica del gamete maschile in modelli umani e sperimentali

### Programma di ricerca

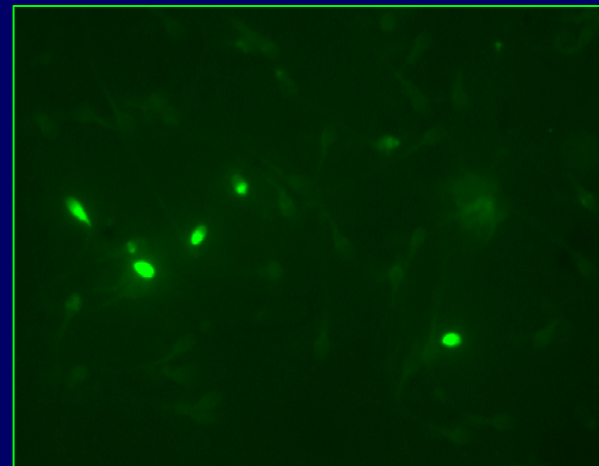
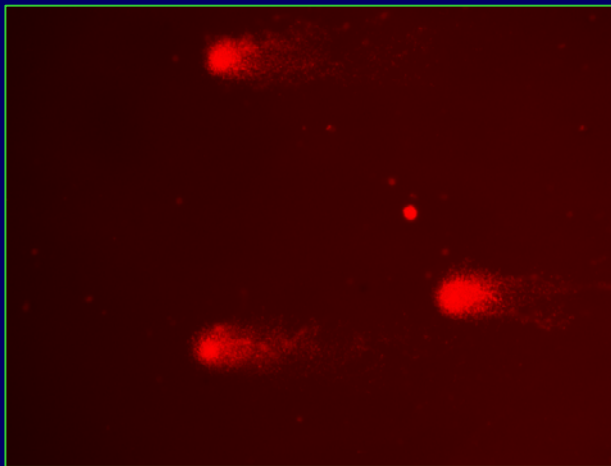
- 1) studio comparativo delle metodologie di valutazione della integrità cromatinica nemaspermica e delle loro caratteristiche e specificità di applicazione
- 2) studio del significato biologico della frammentazione del DNA negli spermatozoi in vitro, in relazione al tempo di incubazione, e la identificazione di fattori predittivi del fenomeno, al fine di valutare l'insorgenza di eventuali frammentazioni de novo, anche in relazione alla possibile interferenza con le metodologie di preparazione del seme per le tecniche di fecondazione assistita
- 3) studio dell'integrità cromatinica nemaspermica in pazienti affetti da patologie neoplastiche pre e post terapia come modello umano di patologia in cui esiste una accertata disregolazione dei meccanismi apoptotici e in cui la terapia anti blastica può contribuire alle alterazioni cromatiniche
- 4) studio della regolazione della condensazione cromatinica spermatica in modelli sperimentali con particolare riferimento al ruolo delle isoforme del gene GPx-4

# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

## UO LENZI

Confronto delle metodologie più utilizzate per lo studio della integrità cromatinica

- Single cell gel electrophoresis assay (COMET)
- Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated nick end labeling (TUNEL)
- Sperm chromatin structure assay (SCSA)

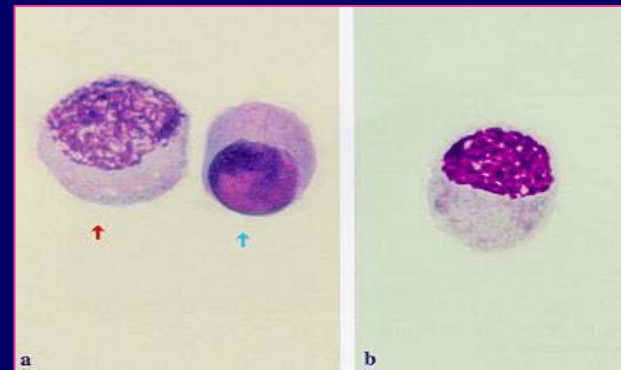


# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

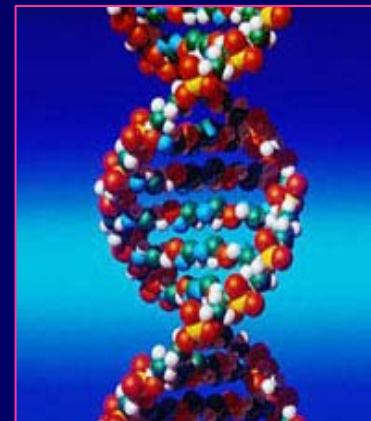
## UO GANDINI

Valutazione delle caratteristiche seminali e frammentazione cromatinica pre e post terapia antineoplastica in pazienti neoplastici affetti da tumore testicolare o morbo di Hodgkin

La ripresa della spermatogenesi dopo terapia **non e' funzione** della qualità dei parametri seminali pre-terapia ma **e' funzione del tipo di terapia**



**A 3 e 6 mesi dalla CH o RT**  
**aumento della sensibilità alla**  
**denaturazione del DNA**



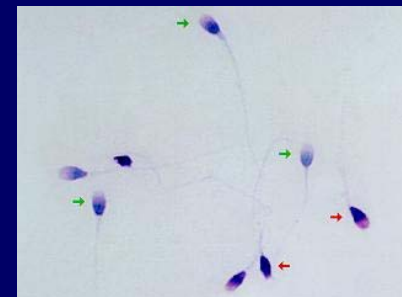
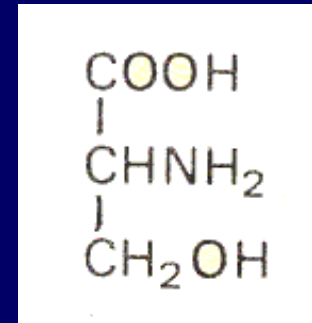
# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

## UO BALDI

➤ Modificazioni di membrana durante la capacitazione e correlazione con l'esposizione di fosfatidil serina (PS) sul versante esterno della membrana sono state investigate con tecniche citometriche, utilizzando **Merocianina 540** per valutare le anomalie di architettura della membrana e **Annexin V** per rivelare la traslocazione di PS. I risultati, in campioni selezionati mediante swim up ed incubati in mezzo capacitante, hanno mostrato che **non vi è alcuna differenza rispetto ai campioni non capacitati.**

➤ Rilevazione mediante merocianina 540 di una nuova componente seminale: gli **M540 bodies**. Questi elementi non sono spermatozoi né cellule, essendo privi di materiale cromatinico; sono corpi sferoidali, eterogenei in dimensioni e densità frequenti in pazienti OAT. Sebbene l'origine di questi elementi sia oscura le loro caratteristiche suggeriscono che si tratti di corpi apoptotici di origine testicolare.

## Fosfatidil Serina



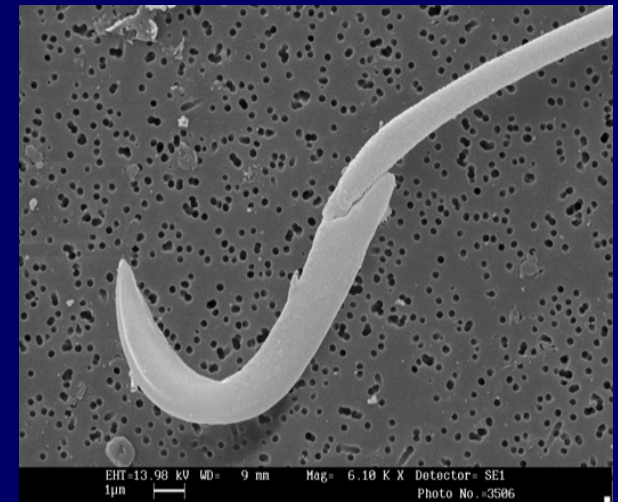
# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

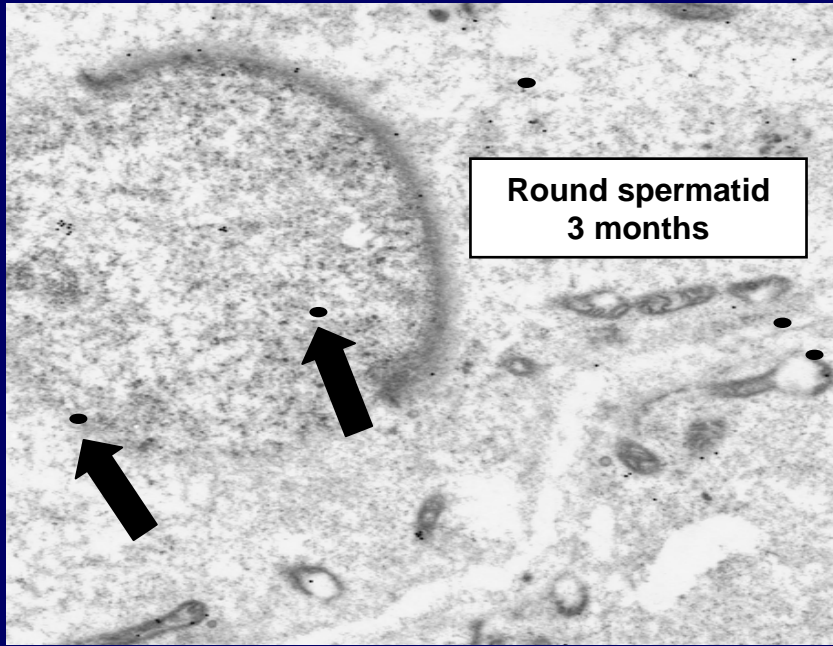
- **UO BOITANI**

La PHGPx appartiene alla famiglia delle glutathione perossidasi identificato sotto due forme, citosolica e mitocondriale, nel testicolo di ratto; di cui è stata isolata una isoforma nucleare (nPHGPx) espressa nelle cellule germinali aploidi del testicolo che differisce dalle prime due esclusivamente nella regione N-terminale.

## Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase

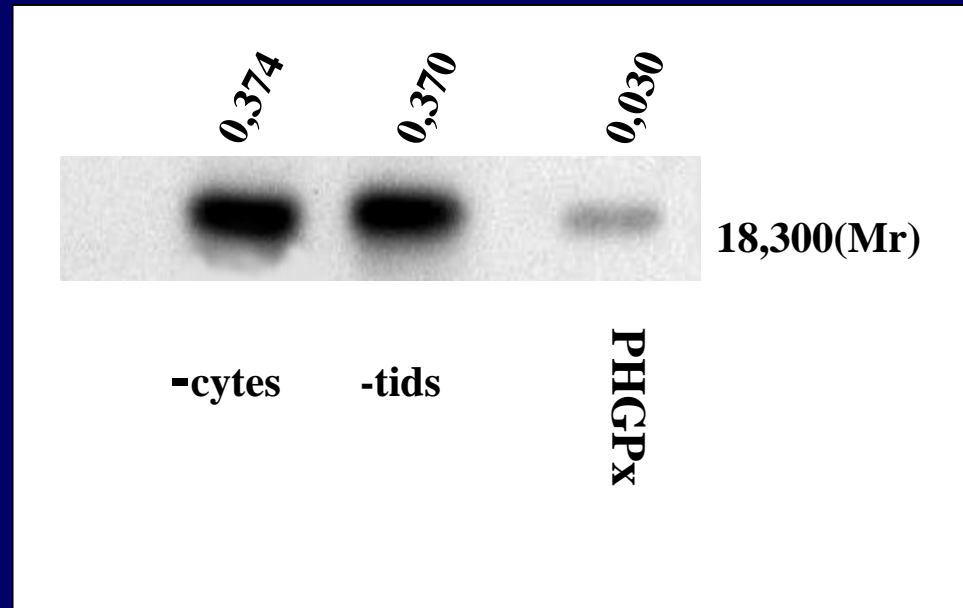
- **Seleno-proteina**
- **Mr 19,000**
- **monomer**





Tale UO ha verificato se l'isoforma nPHGPx è in grado di indurre condensazione del DNA *in vitro*, interagendo con le protamine e i meccanismi molecolari che regolano l'espressione della nPHGPx negli spermatidi

# PHGPx





# BIBLIOGRAFIA

- [Puglisi R, Tramer F, Carlomagno G, Gandini L, Panfili E, Stefanini M, Lenzi A, Mangia F, Boitani C.](#) PHGPx in spermatogenesis: how many functions? *Contraception*. 2005 Oct;72(4):291-3.
- [Tramer F, Vetere A, Martinelli M, Paroni F, Marsich E, Boitani C, Sandri G, Panfili E.](#) cAMP-response element modulator-tau activates a distinct promoter element for the expression of the phospholipid hydroperoxide/sperm nucleus glutathione peroxidase gene *Biochem J*. 2004 Oct 1;383(Pt 1):179-85.
- [Puglisi R, Tramer F, Panfili E, Micali F, Sandri G, Boitani C.](#) Differential splicing of the phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase gene in diploid and haploid male germ cells in the rat. *Biol Reprod*. 2003 Feb;68(2):405-11.
- [Gandini L, Sgro P, Lombardo F, Paoli D, Culasso F, Toselli L, Tsamatropoulos P, Lenzi A.](#) Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients *Hum Reprod*. 2006 Nov;21(11):2882-2889. Epub 2006 Sep 22.
- [Gandini L, Lombardo F, Lenzi A, Spano M, Dondero F.](#) Cryopreservation and sperm DNA integrity. *Cell Tissue Bank*. 2006;7(2):91-8.
- [Tramer F, Caponecchia L, Sgro P, Martinelli M, Sandri G, Panfili E, Lenzi A, Gandini L.](#) Native specific activity of glutathione peroxidase (GPx-1), phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) and glutathione reductase (GR) does not differ between normo- and hypomotile human sperm samples. *Int J Androl*. 2004 Apr;27(2):88-93.
- [Gandini L, Lombardo F, Paoli D, Caruso F, Eleuteri P, Leter G, Ciriminna R, Culasso F, Dondero F, Lenzi A, Spano M](#) Full-term pregnancies achieved with ICSI despite high levels of sperm chromatin damage. *Hum Reprod*. 2004 Jun;19(6):1409-17. Epub 2004 Apr 29.
- [Brewis IA, Moore HD, Fraser LR, Holt WV, Baldi E, Luconi M, Gadella BM, Ford WC, Harrison RA.](#) Molecular mechanisms during sperm capacitation. *Hum Fertil (Camb)*. 2005 Dec;8(4):253-61. Review.
- [Bonaccorsi L, Muratori M, Marchiani S, Forti G, Baldi E.](#) The androgen receptor and prostate cancer invasion *Mol Cell Endocrinol*. 2006 Feb 26;246(1-2):157-62. Epub 2005 Dec 20.
- [Muratori M, Marchiani S, Forti G, Baldi E.](#) Sperm ubiquitination positively correlates to normal morphology in human semen. *Hum Reprod*. 2005 Apr;20(4):1035-43. Epub 2005 Feb 10.
- [Muratori M, Porazzi I, Luconi M, Marchiani S, Forti G, Baldi E.](#) AnnexinV binding and merocyanine staining fail to detect human sperm capacitation. *J Androl*. 2004 Sep-Oct;25(5):797-810.



# Progetti di Ricerca a Interesse Nazionale PRIN 2003

**TITOLO: STUDIO DELL'INTEGRITÀ CROMATINICA DEL GAMETE MASCHILE IN MODELLI UMANI E SPERIMENTALI**

**COFINANZIAMENTO TOTALE : 261.600 Euro**

**Coordinatore scientifico del Programma di Ricerca Andrea Lenzi**

**4 Unità di Ricerca**

<b>UO Baldi E.</b>	<b>Università degli Studi di Firenze</b>
<b>UO Boitani C.</b>	<b>Università degli Studi di Roma "La Sapienza"</b>
<b>UO Gandini L.</b>	<b>Università degli Studi di Roma "La Sapienza"</b>
<b>UO Lenzi A.</b>	<b>Università degli Studi di Roma "La Sapienza"</b>