



Richiesta per borsa di studio da attivare ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021

Il sottoscritto BEI ROBERTO qualifica (ordinario) PATOLOGIA GENERALE (MED/04) afferente al Dipartimento di SCIENZE CLINICHE E MEDICINA TRASLAZIONALE

Interno 6522 email bei@med.uniroma2.it

CHIEDE

l'attivazione di una borsa di studio di dottorato ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021. A tal fine comunica quanto segue:

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo: TISSUE ENGINEERING AND REMODELING BIOTECHNOLOGIES FOR BODY FUNCTION

Area per la quale si presenta la richiesta (selezionare solo una delle due):

Innovazione

Green

Tipologia di cofinanziamento (pari ad euro 8000 una tantum):

Nome dell'Ente finanziatore pubblico o privato: _____

Persona di Riferimento: _____ Telefono _____

Email _____

Fondi di ricerca dipartimentali

Progetto di Ricerca

Valutazione degli effetti biologici in seguito a esposizione a RF in vitro ed in vivo

Descrizione del Progetto: Le radiazioni elettromagnetiche sono radiazioni non ionizzanti comprese tra 0.1-300 GHz che includono le radiazioni ultraviolette a onda lunga, la luce visibile, l'infrarosso, campi a radiofrequenza (RF), microonde, campi con frequenza estremamente bassa (ELF) e campi elettrici e magnetici statici. Le sorgenti di radiazioni non ionizzanti sono suddivise in: sorgenti di ELF (radiazioni fino a 300 Hz, generate dal sistema di produzione, distribuzione ed utilizzo dell'energia elettrica), sorgenti o campi RF (radiazioni comprese tra 100 kHz e 300 MHz, generate da impianti radio e TV), sorgenti di microonde (radiazioni comprese tra 300 MHz e 300 GHz, generate da cellulari o ponti radio). L'applicazione di queste radiazioni non ionizzanti ha avuto un grande sviluppo non solo in ambito civile, ma anche in ambito militare. Il notevole aumento dell'utilizzo delle RF e l'esposizione per lungo tempo ad esse da parte dell'uomo hanno di conseguenza indotto i ricercatori a studiare gli effetti biologici ed individuare eventuali rischi per la salute. Pertanto, sono necessarie linee guida adeguate e appropriate per controllare l'esposizione pubblica e professionale ai campi RF. Infatti, le attuali norme di sicurezza adottate dall'Unione europea si basano sulle linee guida dell'ICNIRP (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection), basate essenzialmente sugli effetti dell'aumento della temperatura indotto da RF. Tuttavia, la comprensione degli effetti non termici delle RF è stata oggetto di diversi studi, ma i



risultati non sono ancora chiari e questi effetti da soli non possono essere utilizzati per definire delle linee guida. In particolare, è necessario stabilire delle regole che limitano l'esposizione alle RF per il personale militare che le utilizza allo scopo di prevenirne gli effetti nocivi. Allo stesso tempo tali regole non dovrebbero essere troppo restrittive causa il mancato utilizzo di apparecchiature RF da parte del personale militare. Le linee guida dell'ICNIRP limitano l'assorbimento di potenza RF per gli effetti locali a 6 minuti considerando una massa di 10g di tessuti. Tuttavia, molte applicazioni militari producono alti impulsi di potenza di picco, che, a causa del loro basso "duty cycle", risultano in potenze medie molto basse. Questi impulsi potrebbero produrre un riscaldamento significativo in tempi molto più brevi di 6 minuti e masse di tessuto più piccole di 10g. Tali segnali non sono adeguatamente coperti dalle linee guida ICNIRP. Poiché molti di questi segnali sono utilizzati solo in applicazioni militari e non sono disponibili dati scientifici sufficienti riguardo a questo specifico rischio di esposizione, c'è la necessità di eseguire ulteriori studi al fine di aumentare le conoscenze in merito per produrre adeguate linee guida di esposizione per tutte le sorgenti di RF militari.

L'obiettivo di questo progetto è la valutazione in vitro degli effetti biologici e la risposta cellulare su colture cellulari primarie e linee cellulari stabilizzate in vitro in seguito a esposizione a RF. Inoltre, sarà valutato il rischio dell'esposizione a radiazioni elettromagnetiche non ionizzanti emesse da sistemi e dispositivi utilizzati nelle attività militari in un campione selezionato tra il personale militare potenzialmente esposto.

Obiettivi formativi: Con lo svolgimento di questo progetto e delle diverse attività pratiche previste, il dottorando avrà una solida preparazione teorico e pratica che gli permetterà di acquisire indipendenza sia nel programmare che nell'eseguire attività sperimentali al fine di rispondere a quesiti scientifici riguardanti lo specifico progetto. Il periodo di studio e ricerca svolto presso la struttura esterna (Policlinico Militare di Roma - Dipartimento Scientifico - Via Santo Stefano Rotondo, 4 - 00184 – Roma) consentirà al dottorando l'iniziale inserimento in una rete di relazioni e scambi con altre strutture di ricerca. Inoltre, il dottorando acquisirà una metodologia della ricerca che potrà applicare successivamente anche in altre tematiche, comprendente capacità di ricerca bibliografica inerente al tema oggetto di studio e metodiche di analisi dei dati. Con lo scopo poi di trasferire i risultati alla comunità scientifica il dottorando dovrà elaborare una tesi di dottorato e contribuire alla stesura di pubblicazioni su riviste scientifiche indicizzate.

Attività previste: Per lo svolgimento del progetto sono previste attività di laboratorio per determinare se l'esposizione in vitro di colture cellulari primarie e linee cellulari umane stabilizzate a impulsi RF potrebbe indurre un danno biologico. Saranno valutati gli effetti biologici e la risposta cellulare su linee cellulari esposte, attraverso un approccio multi-metodologico che include: analisi citofluorimetrica, espressione di γ -H2AX, analisi ultrastrutturale, espressione proteica, analisi NGS. L'espositore di impulsi RF è già presente presso i laboratori del Policlinico Militare di Roma - Dipartimento Scientifico (Direttore: Generale Medico Florigio Lista). L'espositore è stato sviluppato presso il CNR IEIIT nel laboratorio della Dott.ssa Marta Parazzini.

Ogni metodologia è brevemente descritta di seguito.

- **Analisi citofluorimetrica:** per determinare gli effetti dell'esposizione a RF sul ciclo cellulare di colture cellulari primarie e linee cellulari, verrà eseguita l'analisi FACS del contenuto di DNA. Questo tipo di analisi permette di valutare la distribuzione delle diverse fasi del ciclo cellulare dopo l'esposizione delle cellule a RF. I risultati saranno confrontati con quelli ottenuti impiegando cellule non esposte come controllo. Particolare attenzione sarà data alla modifica della percentuale di cellule nella fase subG1, che è caratterizzata da un contenuto di DNA ipodiploide e rappresenta principalmente cellule apoptotiche.



Inoltre, sarà valutata l'induzione di morte cellulare in seguito a esposizione RF con il saggio citofluorimetrico che impiega Annessina V.

- Saggio γ -H2AX: per determinare e quantificare l'induzione di danni al DNA su colture cellulari primarie e linee cellulari in vitro esposte a RF sarà eseguito il saggio che rileva la fosforilazione dell'istone H2AX (γ -H2AX), un marcatore di rotture del doppio filamento di DNA (DSBs), in citofluorimetria.

- Analisi ultrastrutturale: per determinare gli effetti dell'esposizione a RF sulla morfologia delle colture cellulari primarie e delle linee cellulari, l'analisi ultrastrutturale sarà effettuata mediante microscopia elettronica a trasmissione. Questa analisi permette di rilevare le differenze morfologiche (rapporto nuclei/citoplasma, forma cellulare, presenza di vacuoli nel citoplasma o rigonfiamento cellulare) tra le cellule esposte e non esposte.

- Espressione delle proteine: per determinare gli effetti dell'esposizione a RF sull'espressione di proteine dello shock termico (HSP), proteine coinvolte nell'apoptosi e proteine coinvolte nella sopravvivenza cellulare, saranno effettuate analisi di Western blotting o immunofluorescenza. Queste analisi permetteranno di determinare se le radiazioni RF inducono modifiche nell'espressione di queste proteine.

- Profilo di espressione genica tramite analisi del trascrittoma completo: per valutare l'effetto dell'esposizione RF sui profili di espressione genica nelle colture cellulari primarie e nelle linee cellulari, l'analisi del trascrittoma sarà eseguita con l'approccio Next Generation Sequencing NGS RNA-sequencing. I principali vantaggi dell'high throughput RNA-seq rispetto agli approcci microarray sono molteplici includendo i) l'identificazione di nuovi trascritti, ii) non richiede un genoma sequenziato, iii) ha una risoluzione a singolo nucleotide, permettendo l'identificazione di eventi di splicing alternativo e di modifiche post-trascrizionale.

Per valutare il rischio di esposizione a radiazioni elettromagnetiche non ionizzanti emesse da sistemi e dispositivi utilizzati nelle attività militari in un campione di soggetti selezionati tra il personale militare potenzialmente esposto, saranno prelevati campioni ematici. Saranno quindi effettuate analisi citofluorimetriche, ultrastrutturali e di espressione proteica per valutare eventuali effetti biologici da radiazioni confrontandoli con campioni prelevati da personale militare non esposto.

Inoltre, durante i tre anni del progetto, il dottorando seguirà seminari scientifici sugli argomenti del progetto e su altre tematiche, con lo scopo di ampliare le sue conoscenze tecniche e teoriche.

Attinenza del progetto all'area indicata: Questo progetto di ricerca rientra in un quadro di esplorazione scientifica teso a contribuire a quelle che sono le tematiche Green ovvero quelle orientate alla conservazione dell'ecosistema, alla biodiversità, alla riduzione degli impatti del cambiamento climatico e alla promozione di uno sviluppo sostenibile. Specifiche indagini sull'effetto biologico delle RF sull'uomo effettuate su un campione di soggetti appartenenti al personale militare possono fornire una predizione scientifica applicabile in altri contesti umani, contribuendo ad ottimizzare la definizione di parametri fisici ecosostenibili legati all'uso generale di radiazioni non ionizzanti.

Risultati attesi: Risultati ottenuti in nostri progetti precedenti hanno dimostrato come le radiazioni THz tra 100-150 GHz, e le microonde (2.45, 5.3 e 25 GHz) non causano nessun effetto biologico significativo nei fibroblasti umani adulti e fetali. Lo stesso approccio metodologico già ben consolidato permetterà di investigare la presenza di effetti biologici in seguito a esposizione a RF, sia su cellule che su campioni ematici. I risultati derivanti da questa ricerca potrebbero essere utilizzati per la sicurezza e la tutela della salute del personale delle forze armate esposto professionalmente a radiazioni non ionizzanti, ed in particolare a RF, e della popolazione civile che risiede in aree situate in prossimità di installazioni militari di sistemi ad onde elettromagnetiche. Inoltre, lo studio potrebbe contribuire alla



revisione delle attuali normative in vigore sull'esposizione professionale, ai protocolli sanitari e di sicurezza dei militari/civili che svolgono attività con strumenti e dispositivi che producono tali radiazioni.

Azienda pubblica o privata coinvolta nazionale o straniera in cui si prevede di far svolgere il periodo obbligatorio da 6 a 12 mesi previsto dal Decreto Ministeriale: Policlinico Militare di Roma - Dipartimento Scientifico - Via Santo Stefano Rotondo, 4 - 00184 - Roma

Firma