

Progetto di ricerca

Titolo: Studio *in vitro* degli effetti di composti di origine naturale su modelli cellulari di intestino umano

L'epitelio intestinale umano svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi dell'organismo, regolando l'assorbimento dei nutrienti, la funzione di barriera e l'interazione con il sistema immunitario mucosale. L'equilibrio tra integrità strutturale dell'epitelio, organizzazione delle giunzioni intercellulari e controllo della risposta immunitaria innata è essenziale per prevenire l'instaurarsi di condizioni infiammatorie a livello intestinale, per il mantenimento dell'omeostasi intestinale e per il controllo dei processi infiammatori locali (Turner, 2009; Peterson e Artis, 2014). Numerosi studi hanno evidenziato come componenti di origine vegetale o naturale possano modulare i processi infiammatori intestinali, influenzando la vitalità delle cellule epiteliali e immunitarie, la funzione di barriera e la produzione di mediatori pro- e anti-infiammatori. In particolare, composti bioattivi di origine alimentare, quali polifenoli e altri metaboliti naturali, sono stati associati a un miglioramento dell'integrità della barriera intestinale e a una riduzione dello stato infiammatorio basale (Camilleri et al., 2012; Aleman et al., 2023).

In questo contesto, l'impiego di modelli cellulari *in vitro* rappresenta uno strumento efficace per valutare in modo controllato gli effetti di composti di origine naturale sull'infiammazione intestinale. L'utilizzo combinato di modelli cellulari bidimensionali e di modelli tridimensionali di intestino umano ricostruito consente di analizzare sia gli effetti diretti sui diversi tipi cellulari sia le interazioni cellula-cellula che contribuiscono alla risposta infiammatoria dell'epitelio, come riportato in studi che analizzano l'interazione tra barriera intestinale e sistema immunitario mucosale (Blander et al., 2017).

L'obiettivo di questo lavoro è quello di studiare come composti di origine vegetale o naturale possano influenzare l'infiammazione intestinale e la funzione di barriera dell'epitelio intestinale umano, attraverso saggi di vitalità, analisi funzionali e modelli tridimensionali avanzati.

Piano di attività

Il piano di attività si articolerà attraverso le seguenti fasi:

1) Saggi di vitalità su modelli cellulari intestinali

Gli effetti di diversi composti estratti da matrici vegetali o di origine naturale sulla proliferazione e sulla vitalità cellulare saranno valutati utilizzando linee cellulari rappresentative delle principali componenti del tessuto intestinale umano. In particolare, verranno impiegate linee di enterociti, fibroblasti e monociti. In una fase iniziale, la citotossicità dei composti sarà analizzata mediante saggio MTT, attualmente uno dei test di riferimento per la valutazione della tossicità cellulare, accompagnato a saggi di vitalità ed eventuale morte cellulare, quali studi di apoptosi o autofagia. Successivamente, per indagare gli effetti dei composti selezionati sulla componente infiammatoria, verrà valutata la capacità di indurre la migrazione dei monociti in modelli di cocoltura con cellule intestinali.

2) Effetti dei composti selezionati su modelli tridimensionali di intestino umano ricostruito

Gli effetti dei composti selezionati sull'infiammazione dell'intestino umano saranno analizzati mediante l'impiego di modelli tridimensionali di intestino umano ricostruito. I modelli tridimensionali di intestino verranno ottenuti seminando enterociti su dermi ricostruite, generati dalla combinazione di fibroblasti e monociti umani all'interno di una matrice di collagene (Truzzi et al., 2023). Sui modelli di intestino ricostruito, trattati con gli estratti selezionati, verranno valutati i seguenti parametri: (i) integrità dell'epitelio intestinale; (ii) espressione delle proteine delle Tight Junction, caratteristiche delle connessioni cellula-cellula dell'epitelio intestinale; (iii) attivazione delle cellule del sistema immunitario innato; (iv) espressione di citochine pro- e anti-infiammatorie; (v) rilascio di muco.

3) Elaborazione statistica dei dati ottenuti

Tutti i dati rilevati dalle analisi sopra descritte saranno elaborati statisticamente tramite modelli lineari, modelli lineari generalizzati misti e statistica multivariata.

Bibliografia

- Aleman RS, Moncada M, Aryana KJ. Leaky gut and the ingredients that help treat it: a review. *Nutrients*. 2023;15(2):619.
- Blander JM, Longman RS, Iliev ID, Sonnenberg GF, Artis D. Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nat Immunol*. 2017;18(8):851–860.
- Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Verne GN. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(6):503–512.
- Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(3):141–153.
- Truzzi F, Dilloo S, Chang X, Whittaker A, D'Amen E and Dinelli G. Basic Three-Dimensional (3D) Intestinal Model System with an Immune Component. *J Vis Exp*. 2023 Sep 1:(199).
- Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(11):799–809.