

ALTERNANZA SCUOLA-LAVORO ISS

12-15 e 21-23 marzo 2018

BC06: Modelli cellulari per lo studio dell'effetto dei nutrienti sulla salute



*STUDENTI: F. C. (Talete),
M.L. I. (Righi),
A. M. (Farnesina)*

TUTOR: Marco Silano, Olimpia Vincentini, Francesca Maialetti, Rita Di Benedetto

ALIMENTAZIONE

Alla base della nostra salute ci deve essere una sana e corretta alimentazione

3 FUNZIONI FONDAMENTALI

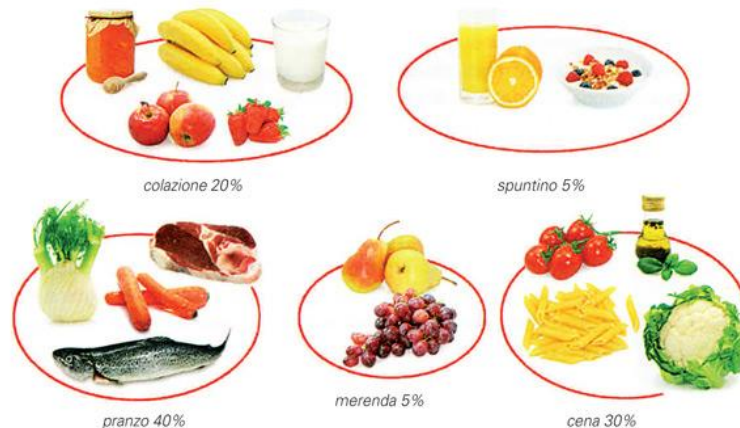
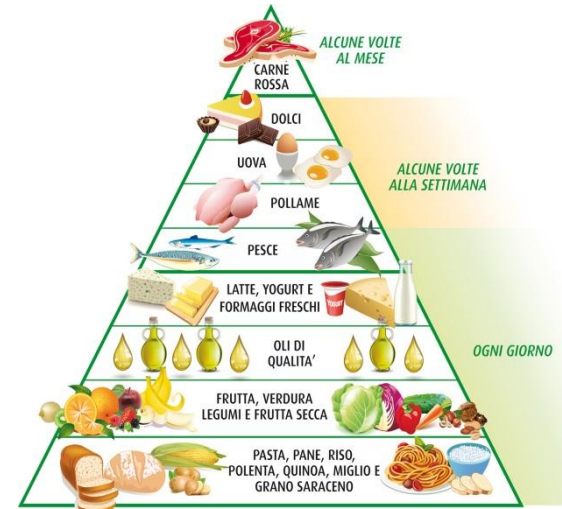
- **FUNZIONE ENERGETICA**
- **FUNZIONE PLASTICA**
- **FUNZIONE REGOLATORIA**



IBM + LAF = FABBISOGNO NUTRIZIONALE

DIETA MEDITERRANEA

- Carboidrati complessi (**55-60%**) e fibre vegetali
- Proteine (**10-12%**)
- Grassi (**30%**)



Blu	Viola	Verde	Bianco	Giallo	Arancio	Rosso
(antocianine, carotenoidi, vitamina C, potassio e magnesio)		(clorofilla, carotenoidi, magnesio, vitamina C, acido folico e luteina)	(polifenoli, flavonoidi, composti solforati nella cipolla e nell'aglio, potassio, vitamina C, selenio nei funghi)	(flavonoidi, carotenoidi, vitamina C)		(licopene e antocianine)
melanzane, radicchio, fichi, frutti di bosco (lamponi, mirtillo, more, ribes), prugne, uva nera		asparagi, agretti, basilico, biette, broccoli, cavoli, carciofi, cetrioli, cicoria, lattuga, rucola, prozzemolo, spinaci, zucchine, uva bianca, kiwi	aglio, cavolfiore, cipolla, finocchio, funghi, mele, pere, porri, sedano	arance, limoni, mandarini, pompelmi, melone, latticini, albicocche, pesche, nespole, carote, peperoni, zucca, mais		pomodori, rape, ravanelli, peperoni, barbabietole, anguria, arance rosse, ciliegie, fragole

PATOLOGIE LEGATE ALL'ALIMENTAZIONE

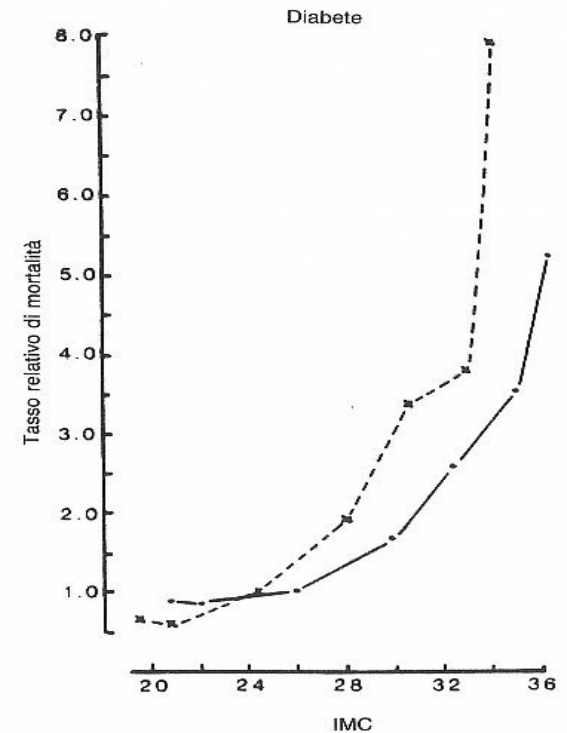
Diabete di tipo II Ipertensione
Osteoporosi Tumori
Allergie Celiachia

MALATTIA CELIACA



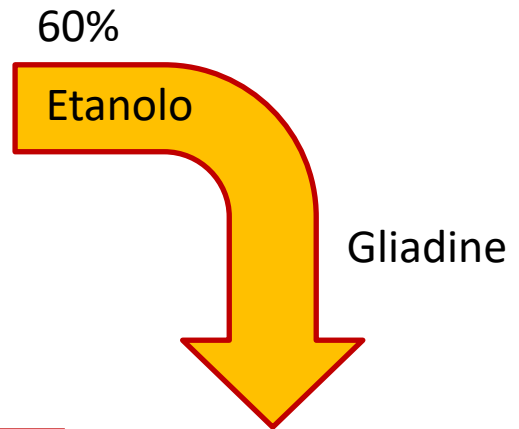
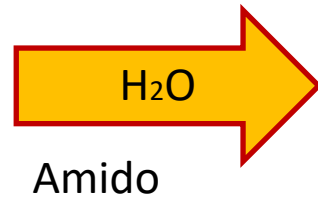
La malattia celiaca è una patologia sistemica scatenata dal glutine in soggetti geneticamente predisposti.

- Componente **ambientale**: responsabile della sua attivazione e del suo mantenimento è rappresentata **dal glutine**, complesso proteico contenuto nei cereali di frumento, orzo, segale.
- Fattore **genetico**: costituito dalla forte associazione dell'antigene leucocitario umano (**HLA**) di classe **DQ2 e DQ8** e le cellule T CD4+ specifiche per il glutine rivestono un ruolo decisivo

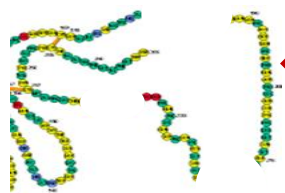
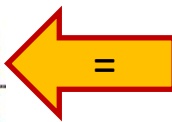


SIMULAZIONE PROCESSO DIGESTIVO DEL GLUTINE

Il glutine è un aggregato proteico ricco di PROLINA. Essa è poco digeribile perché nel tratto digerente dell'uomo mancano gli enzimi digestivi in grado di rompere il legame endopeptidico.



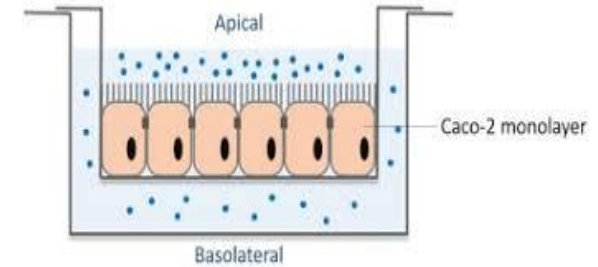
37° 2/4 h



Peptidi digeriti

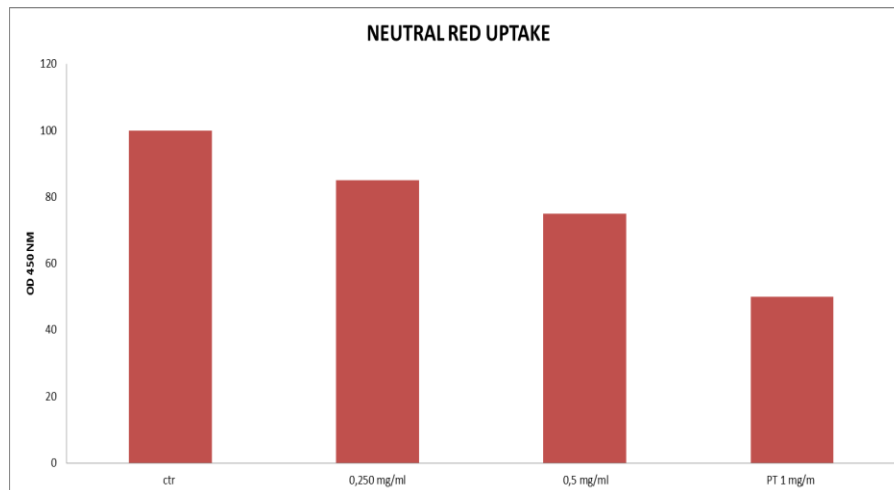
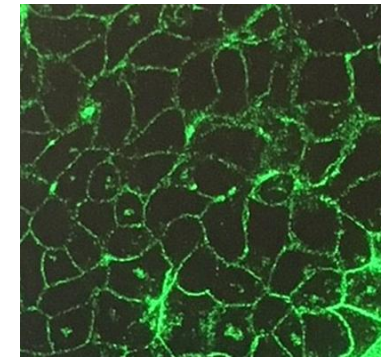
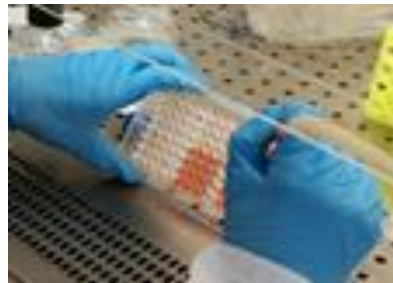
Modello intestinale *in vitro* per lo studio degli effetti del glutine CACO-2

- Differenziano spontaneamente in enterociti
- Formano giunzioni strette e esprimono enzimi digestivi
- Permettono di simulare il lume intestinale mediante coltura bidimensionale (camera apicale e camera basolaterale)



Test di proliferazione cellulare

Per valutare la vitalità delle cellule si effettua il test del rosso neutro, un colorante lisosomiale

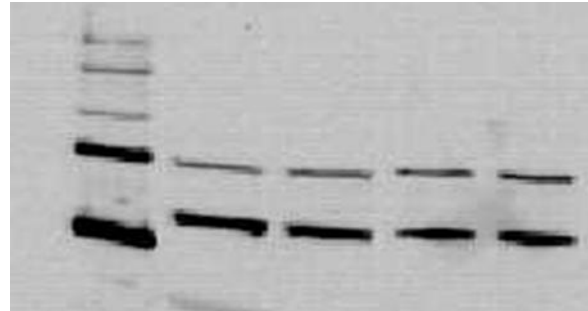
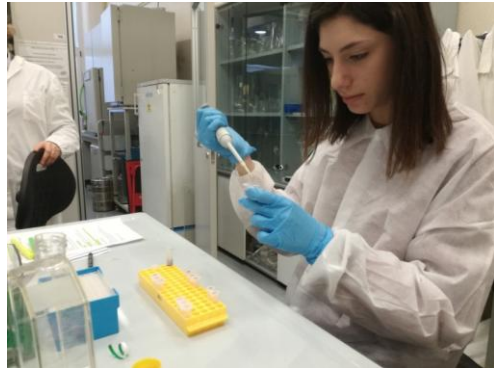


La valutazione analitica si effettua tramite spettrofotometro



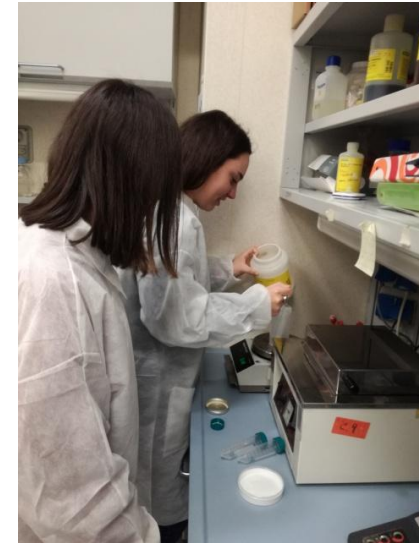
WESTERN BLOT

Espressione della transglutaminasi tissutale (tTG) in cellule intestinali dopo trattamento con PT-GI

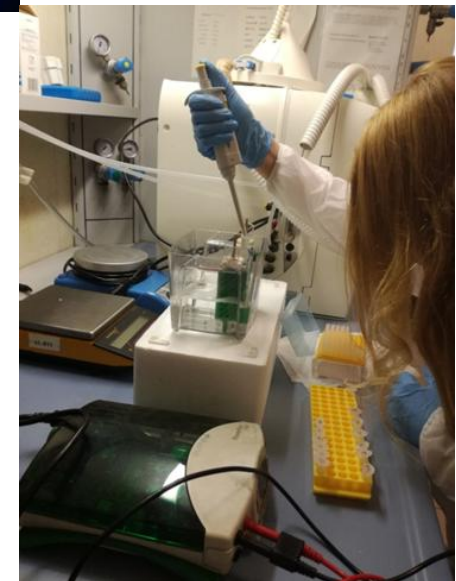
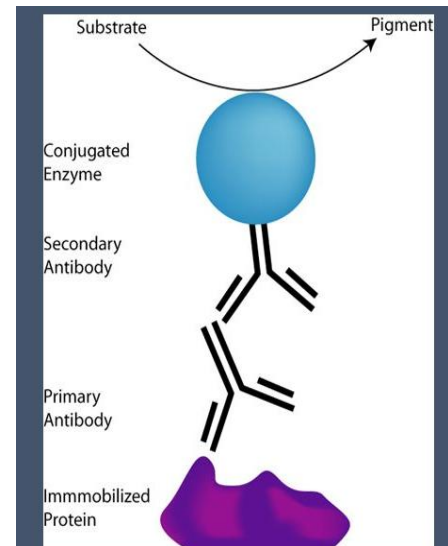


tTG 75 kDa

Actina 45 kDa

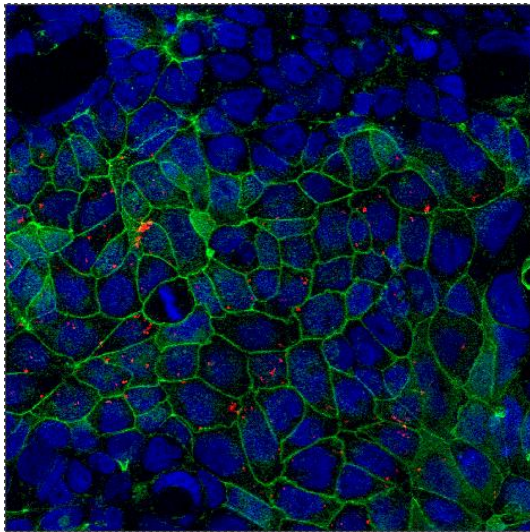


Le proteine estratte dalle cellule caco-2 sono state fatte correre su un gel di poliacrilammide e trasferite su una membrana di nitrocellulosa incubata con un anticorpo monoclonale per la transglutaminasi, un anticorpo secondario in grado di legare il primario coniugato con l'HRP e rivelato mediante Chemiluminescenza e confrontate con una proteina di riferimento (actina)

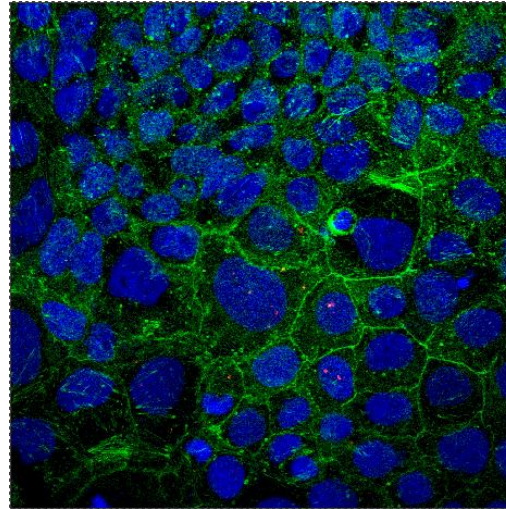


MICROSCOPIO CONFOCALE

Le cellule sono state trattate con il digesto gliadinico per 24 ore e marcate con anticorpi fluorescenti per analizzare il citoscheletro (actina) in verde e il DNA (nucleo) in blu



Ctr



PT -gliadin



Risultato: Il digesto gliadinico ha causato una disorganizzazione del citoscheletro



GRAZIE!!!

