

BARRIERA EMATO-ENCEFALICA

- Progetto in fase di raccolta fondi -

*Progetto gestito da LARF, Laboratorio Analisi Ricerca e Fisiopatologia
Università di Genova*

Gli esseri umani e l'ecosistema, abitualmente, sono esposti a più composti chimici che diventano fattori di stress cumulativi. La contemporanea esposizione a più contaminanti, infatti, può aumentarne gli effetti tossici.

Dati della letteratura scientifica recente suggeriscono che i disturbi neurali possono avvenire in età precoce e che l'esposizione all'inquinamento atmosferico, a farmaci e xenobiotici sembrano avere un ruolo cruciale in questo processo. Per tali motivi, in campo tossicologico non si dovrebbe prescindere dal valutare il potenziale neurotossico dei composti chimici e delle loro miscele, tenendo conto che spesso i sintomi associati all'alterazione della funzionalità nervosa

possono essere ritardati, progressivi e spesso irreversibili, influenzando negativamente sulla qualità della vita, con implicazioni importanti sia a livello sanitario che socio-economico.

I test di tossicità generale ed in particolare quelli di neurotossicità condotti in vivo sui roditori sono di costo e complessità elevati e si stanno rivelando poco sensibili ed inadatti per lo screening di un elevato numero di prodotti chimici. Inoltre, il sistema nervoso umano differisce sostanzialmente da quello dei roditori. Si rende quindi necessario sviluppare dei modelli alternativi in vitro, basati sull'utilizzo di cellule umane per poter rilevare il potenziale tossico di composti chimici e delle loro miscele, con un alto valore predittivo sull'uomo.

Inoltre, per mimare al meglio le condizioni fisiologiche presenti nel sistema nervoso in vivo, è necessario considerare e riprodurre nei modelli in vitro la barriera emato-encefalica (BEE), che regola selettivamente il passaggio di sostanze chimiche da e verso il sistema nervoso. Un modello in vitro che riproduca il sistema nervoso e la BEE, permetterebbe di comprendere non solo l'effetto delle sostanze chimiche o dei farmaci sulle cellule nervose, ma anche la capacità di questi di oltrepassare la BEE e quindi di svolgere la loro reale attività. Molte delle terapie potenzialmente neuroriparatrici e neuroprotettive oggi disponibili non sono in grado di esplicitare questi loro effetti, proprio poiché non riescono ad

oltrepassare la barriera emato-encefalica spesso selettiva anche per alcuni farmaci. Poche sono le informazioni disponibili sui possibili danni a livello del sistema nervoso.

La barriera ematoencefalica (BEE)

La BEE è una barriera selettiva univoca per il sistema nervoso centrale (CNS), che impedisce il passaggio della maggior parte dei composti al SNC, e ciò rende ancora più complessa la formulazione e lo sviluppo di farmaci nuovi.

In questi ultimi anni molti studi sono focalizzati sull'allestimento di modelli in vitro alternativi di BEE. Modelli transwell con applicazione di tecnologia microfluidica, sembrano riprodurre meglio l'ambiente dinamico della BEE.

Scopo del progetto

Come è noto, gli effetti di un composto chimico direttamente su cellule nervose, potrebbe non rispecchiare l'effettivo rischio per la salute umana, dal momento che il composto introdotto nell'organismo deve oltrepassare la BEE per agire a livello cerebrale, e la BEE è selettiva e quindi non permette il passaggio di tutte le molecole.

Partendo da questo presupposto si vuole allestire un modello di BEE basato su tecnologia millifluidica, che consenta il flusso di liquidi attraverso le cellule della BEE e, se queste ultime permetteranno il passaggio di un composto in esame, si potranno valutarne gli effetti sulle cellule di origine nervosa (astrociti, neuroni ecc.) . Il modello potrà essere utile per studiare gli effetti dell'esposizione a composti chimici, naturali e di sintesi (inquinanti, farmaci, estratti vegetali) su cellule nervose, interponendo un costrutto di BEE, per poter simulare al meglio la condizione in vivo.

DESCRIZIONE DELL'APPROCCIO SPERIMENTALE

Si analizzeranno gli effetti di composti naturali (es. cannabis, oli e acque essenziali estratti da piante edibili) e alcune molecole note per effetti neurotossici.

Step 1

Allestimento di un modello 3D di cellule endoteliali umane (commerciali) in un sistema statico (insert) e in un sistema dinamico (millifluidica)

Valutazione della tossicità del composto in esame su cellule umane di origine endoteliale, per definire meglio le concentrazioni da testare successivamente sulle cellule di BEE di origine umana.

Parallelamente si valuteranno gli stessi effetti anche su monociti umani per simulare gli effetti su cellule implicate nella risposta immunitaria innata.

Gli end points analizzati saranno:

- indici di vitalità e proliferazione
- potenziale pro/anti infiammatorio (analisi di citochine e chemochine selezionate)
- potenziale pro/anti ossidante

Step 2

Allestimento di un modello 3D di cellule umane di BEE in un sistema statico (insert) e in un sistema dinamico (millifluidica)

Valutazione degli endpoints descritti nel primo step per verificare se gli effetti

osservati con il modello di endotelio sono sovrapponibili o meno a quelli che si osserveranno nel modello BEE e se vi siano differenze tra modello statico e modello dinamico.

Step 3

Allestimento di un modello 3D di cellule umane di origine nervosa in un sistema statico (insert) o in idrogel

Le cellule saranno esposte direttamente al composto in esame e parallelamente al terreno condizionato, proveniente dalle colture di BEE .

Gli end points analizzati saranno analoghi a quelli indicati nello Step 1.