



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE DIPARTIMENTO SCIENZE
DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di laurea in
SCIENZE BIOLOGICHE**

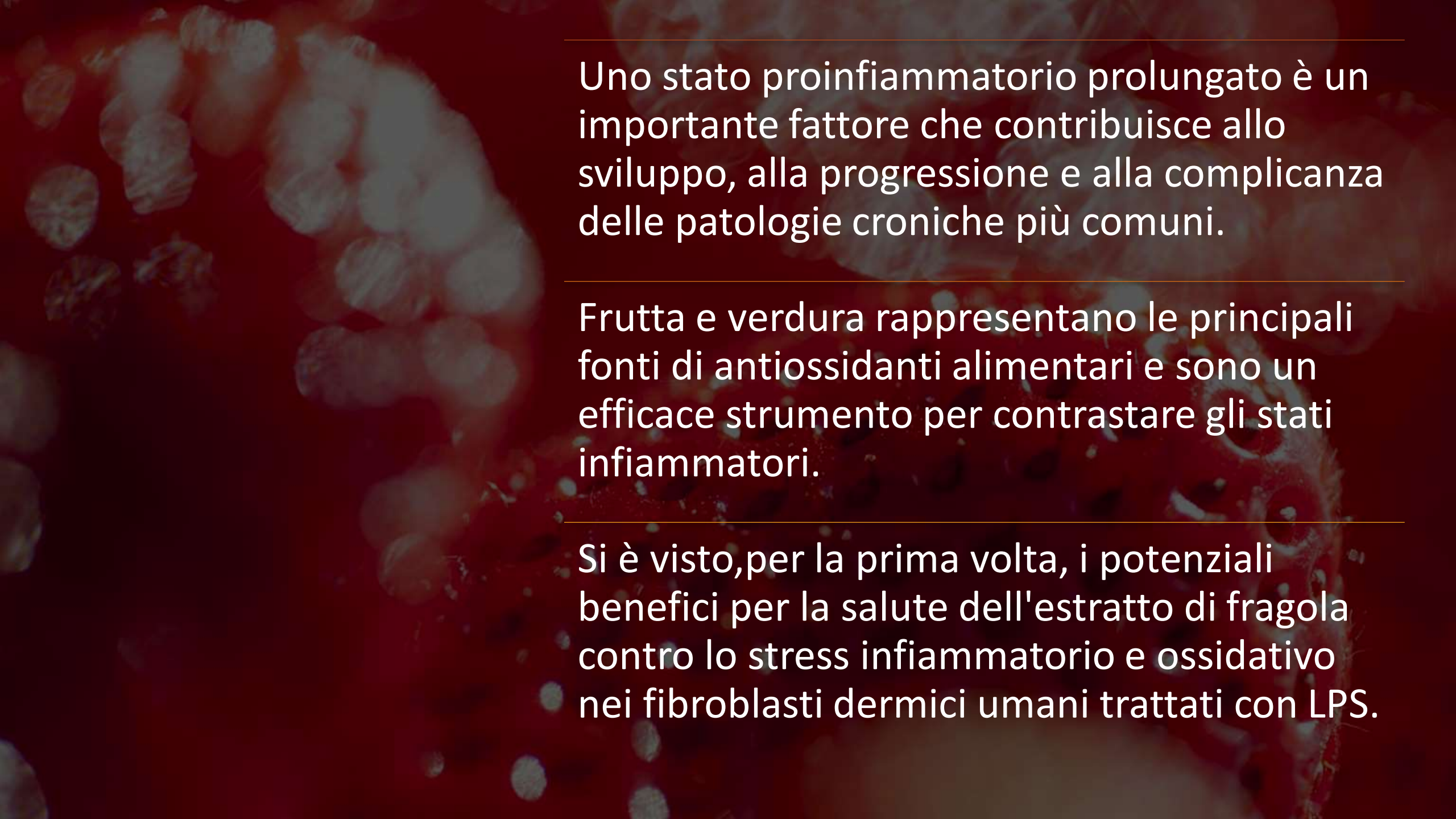
**Effetto protettivo dell'estratto di fragola sullo stress infiammatorio indotto nei fibroblasti
dermici umani**

**Protective Effect of Strawberry Extract against Inflammatory Stress Induced in Human
Dermal Fibroblasts**

**Tesi di laurea di
Pietro Sarcone**

**Docente Referente
Prof. Stefano Bompadre**

**Sessione autunnale Dicembre 2020
Anno accademico 2019/2020**

A microscopic image of cells, possibly fibroblasts, with a red overlay. The cells are arranged in a grid-like pattern, and the red overlay is concentrated in the center and right side of the image.

Uno stato proinfiammatorio prolungato è un importante fattore che contribuisce allo sviluppo, alla progressione e alla complicità delle patologie croniche più comuni.

Frutta e verdura rappresentano le principali fonti di antiossidanti alimentari e sono un efficace strumento per contrastare gli stati infiammatori.

Si è visto, per la prima volta, i potenziali benefici per la salute dell'estratto di fragola contro lo stress infiammatorio e ossidativo nei fibroblasti dermici umani trattati con LPS.

L'eccessiva produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), quando non più adeguatamente controllate dai sistemi di difesa antiossidante, portano a danni tissutali e alla morte cellulare, attivando processi di apoptosi e necrosi. A livello cellulare i principali bersagli dell'attacco dei ROS sono i lipidi, le proteine e il DNA.

LIPIDI

- Il danno lipidico si verifica principalmente nelle membrane cellulari (per il loro contenuto di acidi grassi polinsaturi)

PROTEINE

- Le proteine possono subire danni diretti e indiretti a seguito dell'interazione con ROS, come: cambiamenti nella loro struttura terziaria, degradazione e frammentazione.

DNA

- I ROS possono interagire anche con il DNA causando la perdita di purine e la modifica delle basi del DNA.

Lo scopo del lavoro era valutare gli effetti degli estratti metanolici della cultivar di fragola “Alba” sullo stato infiammatorio indotto da *E. coli* lipopolisaccaride (LPS) sulla linea cellulare di fibroblasti dermici umani (HDF).

LPS

L'endotossina LPS, costituisce una struttura della membrana esterna ed è comunemente usato come agente infiammatorio.

HDF

Rappresenta un modello cellulare standard per diversi tipi di determinazioni di tossicità e contribuiscono alla progressione dei processi infiammatori.

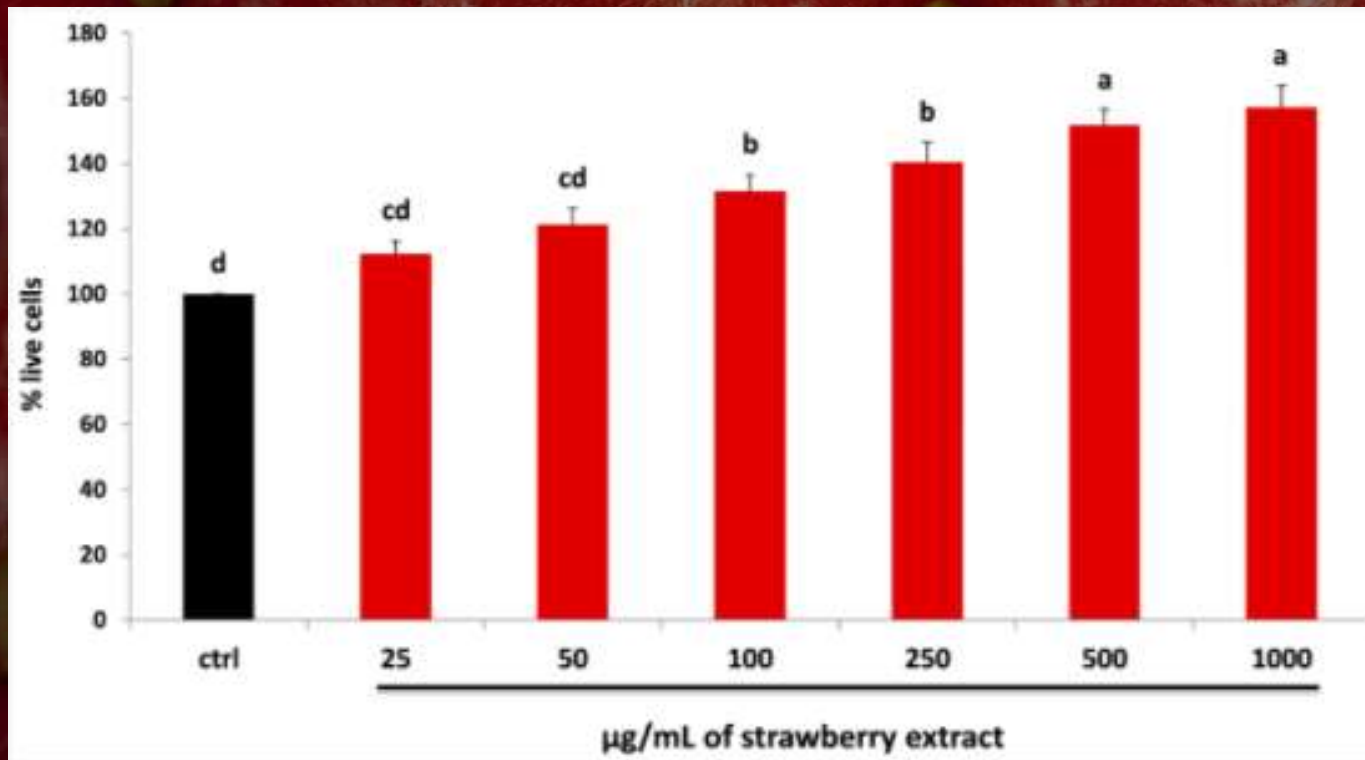
L'estratto della cultivar di fragola Alba ha mostrato:

- un buon contenuto di polifenoli (TPC)
- vitamina C
- flavonoidi (TFC)

Insieme agli altri composti bioattivi presenti nelle fragole, rappresentano gli elementi responsabili di numerose azioni benefiche per la salute umana.

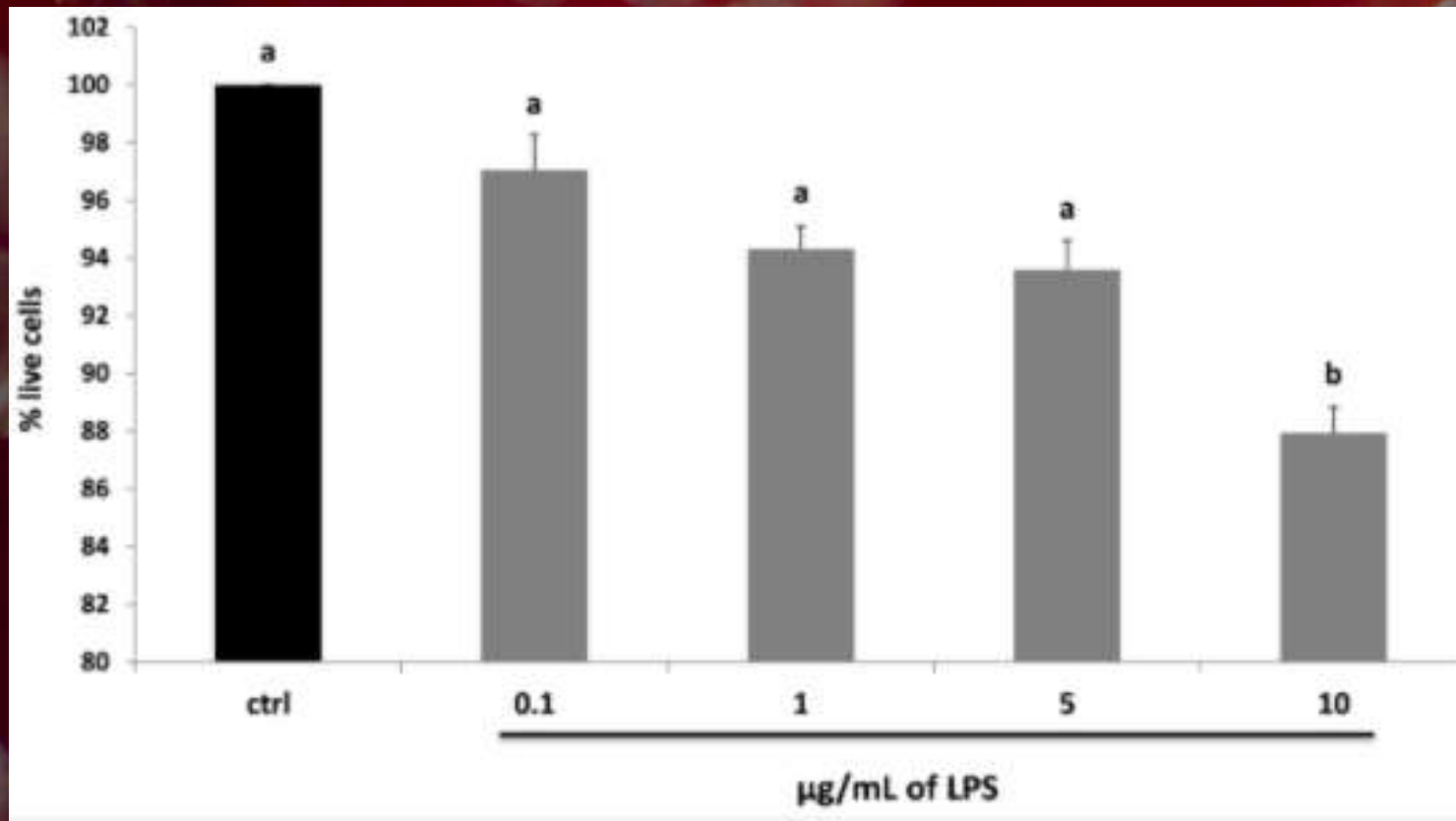
L'estratto di Alba ha anche mostrato un elevato valore di capacità antiossidante totale (TAC).

Le cellule HDF sono state incubate per 24 ore con diverse concentrazioni di estratti di fragole essiccate al fine di valutare il loro possibile effetto citotossico. Dopo il trattamento, è stato osservato un aumento della vitalità cellulare in modo dose-dipendente, fino a + 57% con 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ di estratto di fragola. Questi risultati hanno evidenziato l'effetto anti-citotossico del trattamento con fragole sulla vitalità cellulare.



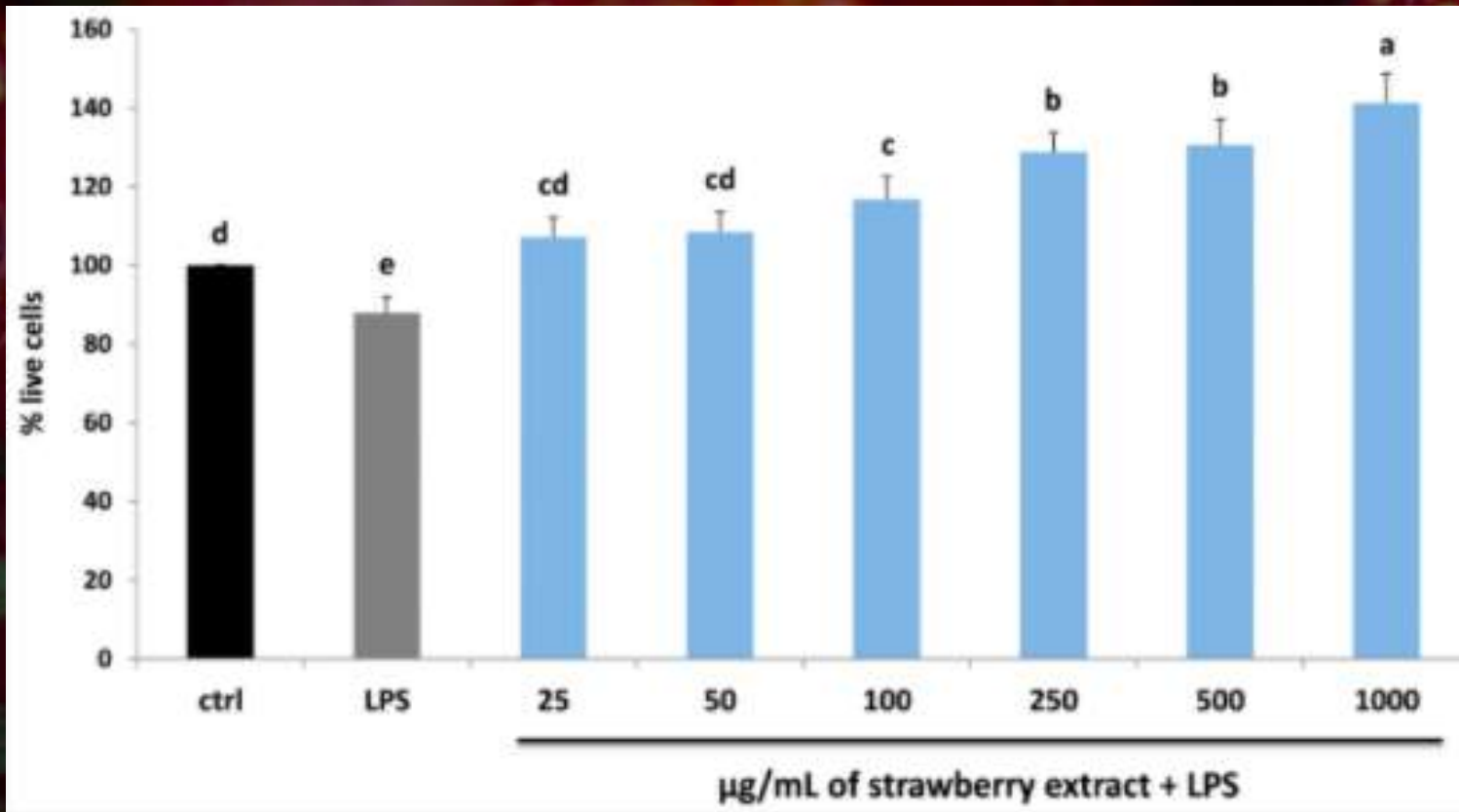
- Saggio MTT per la determinazione della vitalità cellulare in cellule HDF trattate con diverse concentrazioni di estratti di fragola (25–1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$) per 24 ore (barre rosse). La barra nera rappresenta il gruppo di controllo

Per testare l'effetto di LPS sulla vitalità cellulare, le HDF sono state trattate con diverse concentrazioni di endotossine per 24 ore. Solo 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$ di LPS hanno prodotto una riduzione significativa della vitalità, -13% rispetto al controllo



- Saggio MTT per la determinazione della vitalità cellulare in cellule HDF trattate con diverse concentrazioni di LPS (0,1–10 $\mu\text{g} / \text{mL}$) per 24 h (barre grigie). La barra nera rappresenta il gruppo di controllo.

Gli estratti di fragola hanno mostrato un ruolo protettivo a tutte le diverse concentrazioni applicate, producendo un aumento significativo della vitalità cellulare rispetto alle cellule trattate con LPS già a 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$.



- Saggio MTT per la determinazione della vitalità cellulare in cellule HDF trattate con LPS (10 $\mu\text{g} / \text{mL}$) per 24 h (barra grigia) e diverse concentrazioni di estratto di fragola (25-1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$) per 24 h e poi con LPS (barre blu). La barra nera rappresenta il gruppo di controllo.

La vitalità cellulare è stata determinata utilizzando il dosaggio MTT. le HDF sono state seminate in piastre da 96 pozzetti lasciato aderire per 16-18h. Dopo che le cellule erano aderite, sono state incubate con:

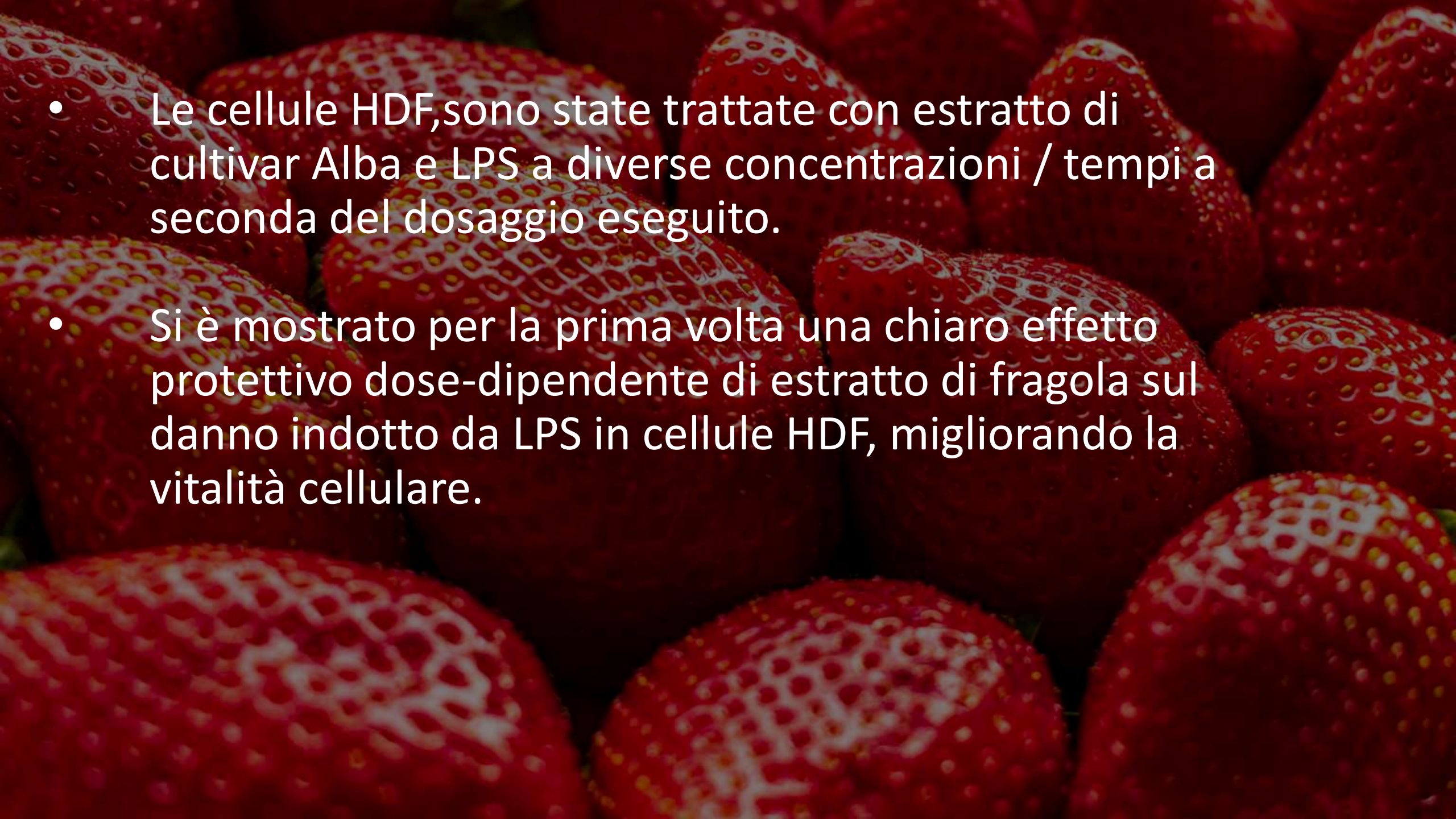
DMEM solo per il gruppo di controllo

estratto di fragola essiccato a 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ per 24 ore.

estratto secco di fragola per 24 ore e poi con LPS a 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$ per 24 ore.

LPS a 0,1, 1, 5 e 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$ per 24 ore.

•Al termine delle diverse incubazioni (1,2,3,4) i fibroblasti sono stati lavati due volte con PBS(soluzione tampone) e incubati con una soluzione salina di MTT ad una concentrazione di 0,5 mg / mL per 2 ore a 37 ° C.

- 
- Le cellule HDF, sono state trattate con estratto di cultivar Alba e LPS a diverse concentrazioni / tempi a seconda del dosaggio eseguito.
 - Si è mostrato per la prima volta un chiaro effetto protettivo dose-dipendente di estratto di fragola sul danno indotto da LPS in cellule HDF, migliorando la vitalità cellulare.

BIBLIOGRAFIA

- Protective Effect of Strawberry Extract against Inflammatory Stress Induced in Human Dermal Fibroblasts by Massimiliano Gasparri, Tamara Y. Forbes-Hernandez, Francesca Giampieri, Sadia Afrin, Bruno Mazzetti, Josè L. Quiles, Stefano Bompadre e Maurizio Battino.
- [Pubmed.ncbi.nlm.nih.gov](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov)