

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
Corso di Laurea in Scienze Biologiche

Valutazione dell'effetto della somministrazione di antibiotici mediante nanoparticelle magnetiche in colture cellulari di fegato e intestino di zebrafish

*Safety assessment of antibiotic administration by magnetic nanoparticles in in vitro zebrafish
liver and intestine cultures*

Tesi di laurea di:
Carla Marinelli

Relatore:
Prof.ssa Francesca Maradonna

Anno Accademico 2019/2020

INTRODUZIONE

Le colture *in vitro* possono essere considerate una valida alternativa alle sperimentazioni *in vivo* per la valutazione della tossicità di farmaci e altri composti chimici

L'esperimento *in vitro* garantisce:

- Rispetto dell'etica
- Riduzione dello stress sull'animale
- Riduzione costi dell'esperimento
- Condizioni stabili dell'esperimento

SCOPO

L'obiettivo di questo studio è quello di valutare *in vitro*, utilizzando linee cellulari di fegato e intestino, l'effetto dell'esposizione a nanoparticelle, quali possibili carrier di antibiotici

SPERIMENTAZIONE

L'ossitetraciclina (OTC) è uno dei pochi antibiotici il cui uso è permesso nell'acquacoltura di specie destinate al consumo umano

Studi pregressi condotti in vivo hanno mostrato che:

- antibiotico comunemente usato in acquacoltura ma scarsamente assorbito dallo zebrafish
- il complesso IONPs-OTC non induce stress
- il ceppo E.coli risulta essere sensibile all'ossitetraciclina (OTC)

METODI E MATERIALI

- 200 zebrafish adulti di 6 mesi AB femmina
dopo un mese di adattamento alle seguenti condizioni: 28°C, fotoperiodo 14L/10D, pH 7, NO₂ e NH₃ < 0.03mg/L, alimentati con un pellet commerciale due volte al giorno

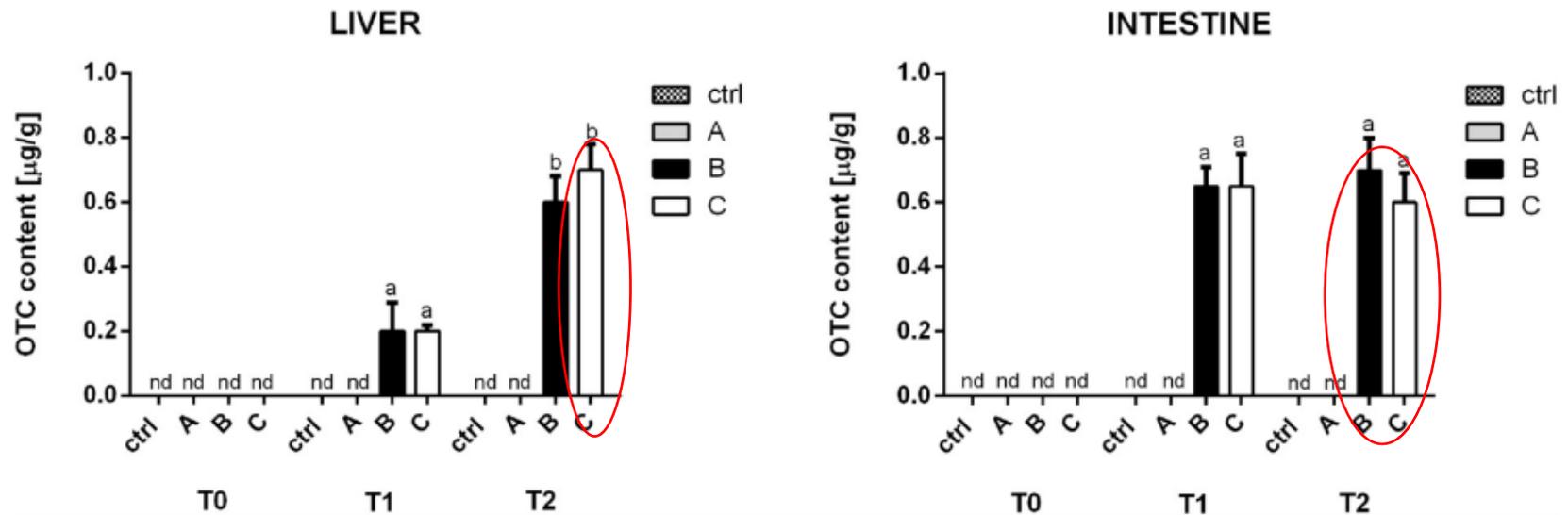
- Frammenti di fegato e intestino di zebrafish vengono esposti per 24h:
Gruppi sperimentali
 1. Controllo: tessuti mantenuti in mezzo di coltura
 2. Gruppo A: tessuti trattati con IONPs ad una concentrazione di 100mg/L
 3. Gruppo B: tessuti trattati con IONPs@OTC (OTC legata alle nanoparticelle) ad una concentrazione di 100mg/L di IONPs, corrispondente ad una concentrazione di 4mg/L di OTC
 4. Gruppo C: tessuti trattati con OTC libera ad una concentrazione di 4mg/L

METODI E MATERIALI

I tessuti esposti alle 4 condizioni sono poi trattati per essere sottoposti a:

- HPLC
- analisi istologica
- estrazione dell'RNA totale e retrotrascrizione dell'mRNA
- PCR dei geni coinvolti nei processi di stress e di crescita

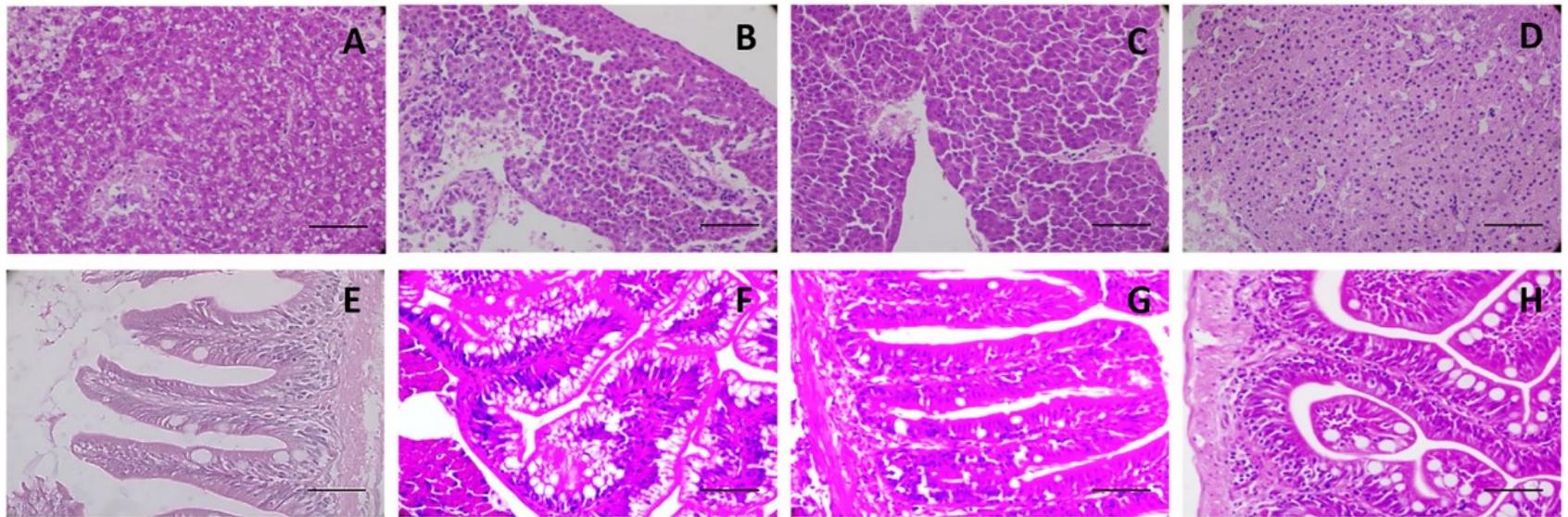
RISULTATI (HPLC)



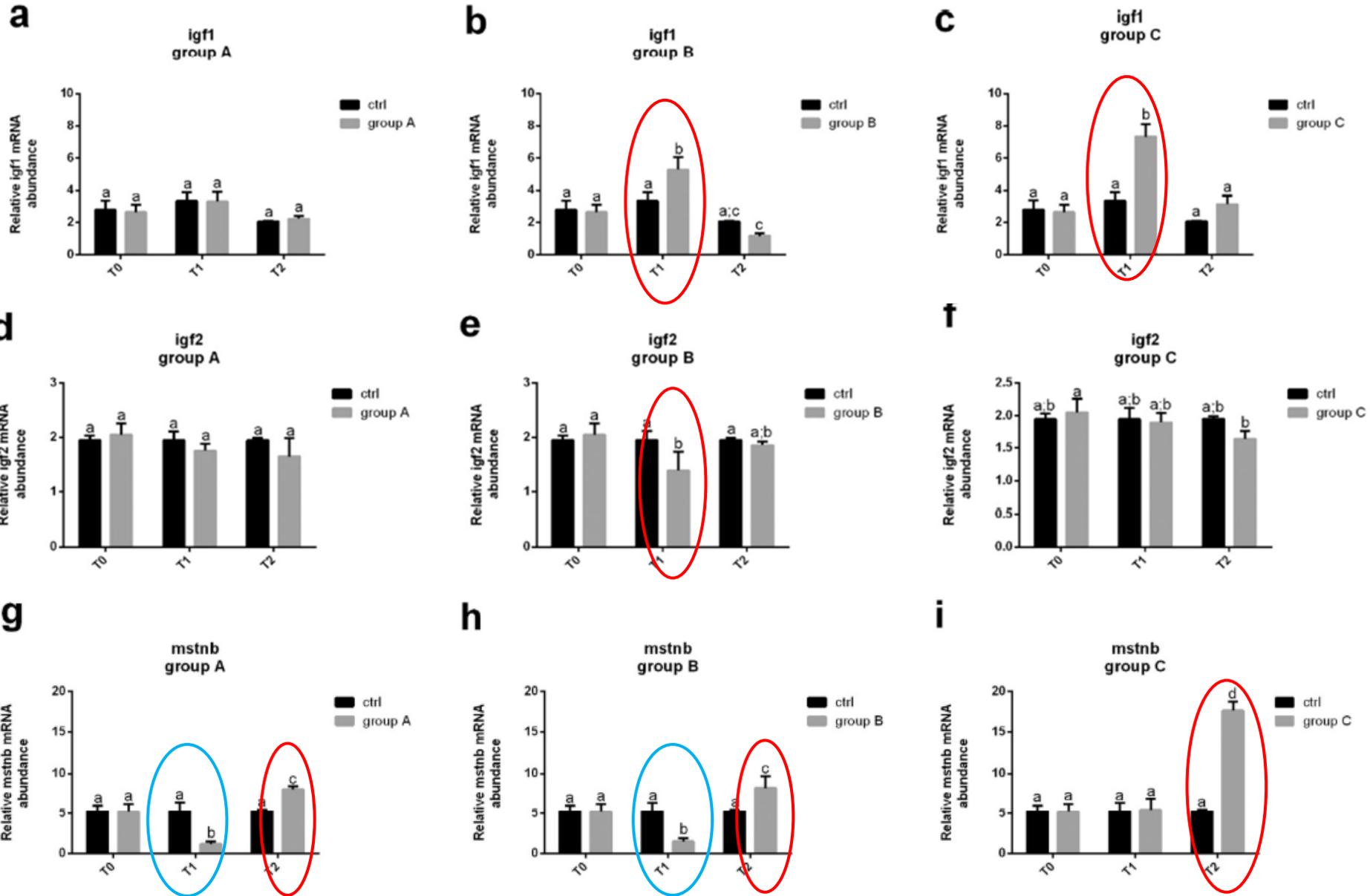
Si riscontra maggiore concentrazione di OTC nei tessuti di intestino perché le NP sono assorbite nel tratto gastrointestinale, come studi precedenti hanno dimostrato

RISULTATI (ANALISI ISTOLOGICA)

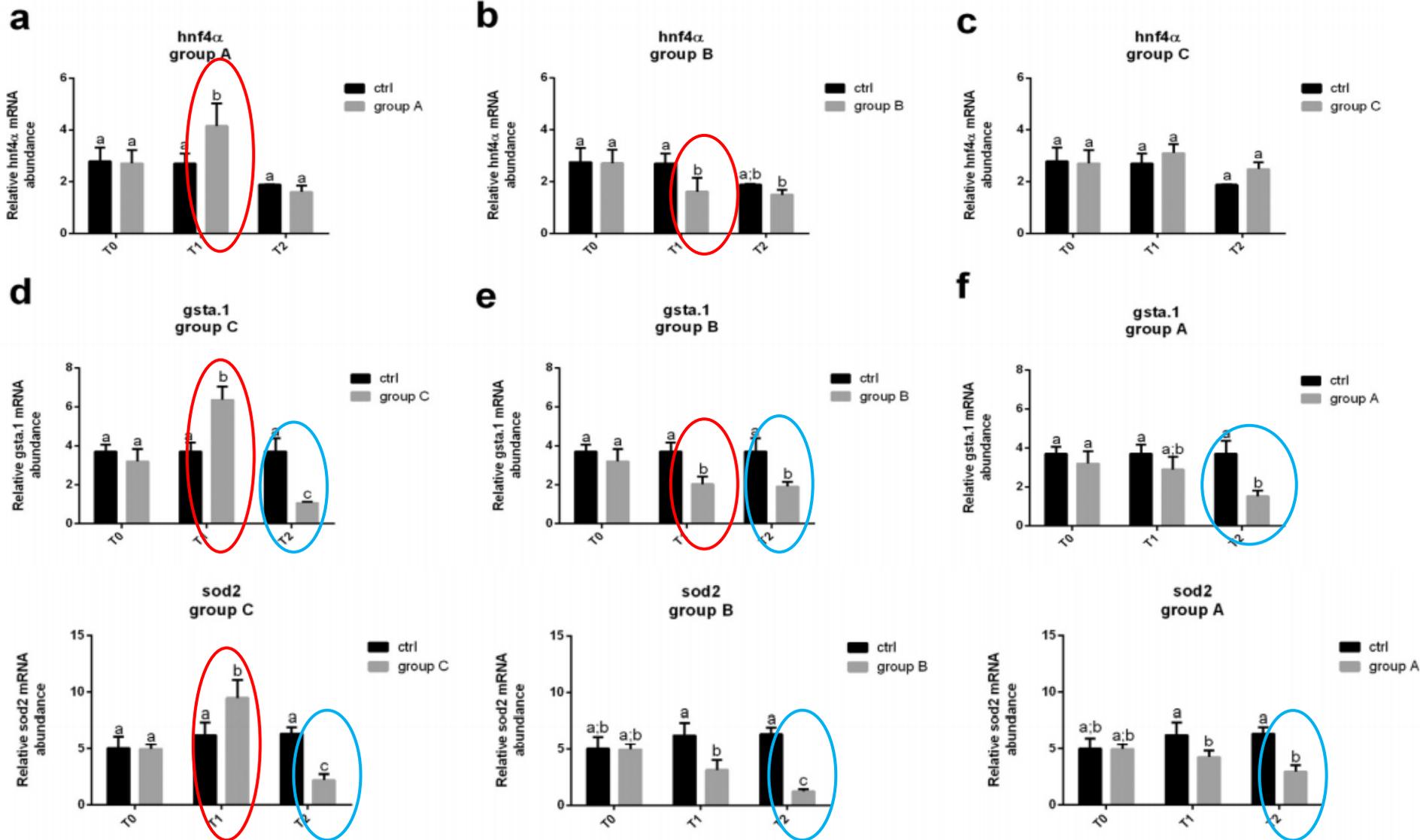
- Nessuna differenza rilevante rispetto al gruppo di controllo
- Non sono state osservate infiammazioni, steatosi, vacuolizzazione, edema, atrofia cellulare o necrosi in tutti i tessuti analizzati



RISULTATI (PCR – GENI DI CRESCITA)



RISULTATI (PCR – GENI DI STRESS)



CONCLUSIONI

Anche *in vitro* l'utilizzo del complesso IONPs@OTC è risultato essere un metodo valido per somministrare OTC

Questo studio consolida i risultati di studi precedenti *in vivo* che dimostrano la non tossicità delle IONPs

Limiti:

Differenza nella risposta dei geni coinvolti nella risposta allo stress quando esposti a NP (crescita) e IONPs@OTC (decrecita) per:

- Mancanza di un sistema biologico completo per studiare gli effetti della tossicità
- Differenza tempo di esposizione
- Contatto diretto delle NP sospese nel terreno di coltura

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Chemelloa G., Randazzoa B., Zarantonielloa M. , Fifib A.P., Aversab S., Ballarinc C. , Radaellic G., Magroc M., Olivottoa I., 2019, Safety assessment of antibiotic administration by magnetic nanoparticles in in vitro zebrafish liver and intestine cultures, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, vol. 224, pp. 1-8.