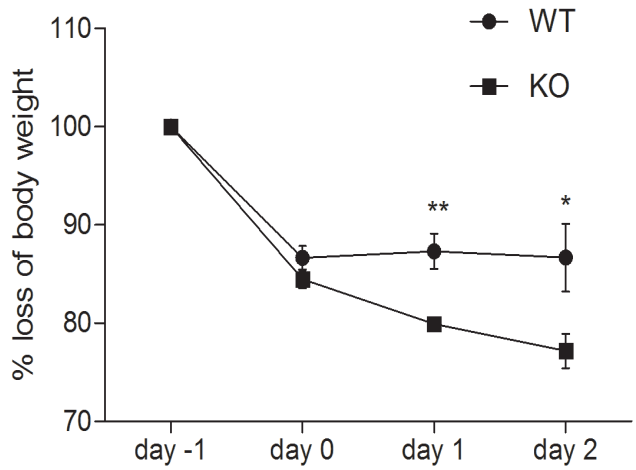
RELAZIONE DI META' PERIODO BORSA SIF-MSD ERIKA RICCI:

"Study of the role of glucocorticoids in the induction of CD8+T regulatory cells (CD8+ Tregs) and inhibition of inflammatory colitis"

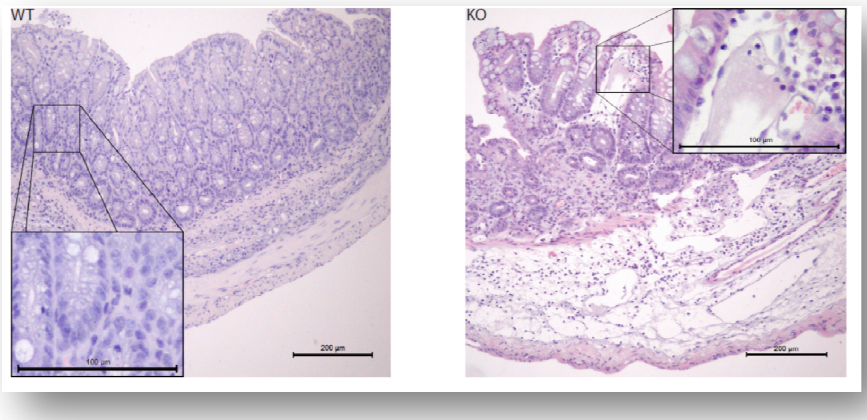
Il mio lavoro in questa primo periodo di Borsa SIF-MSD è stato dedicato allo studio di una particolare popolazione di cellule: CD8+ Tregs in un modello murino di colite indotta da DNBS. Le cellule CD8+ Tregs anche se fin'ora poco conosciute, da studi mostrati da altri gruppi risultano protettive nel modello sperimentale di IBD (Menager-Marcq *et al*., 2006; Endharti *et al*., 2011). Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare nel modello di IBD se l'assenza di GILZ (glucocorticoid-induced leucine zipper) comporti una variazione delle cellule CD8+ Treg, valutabile come una diversa risposta fenotipica nel modello di colite rispetto al gruppo dei GILZ-KO. Per questo studio mi sono avvalsa dell'utilizzo di topi C57BL/6 GILZ KO e WT di 8-12 settimane a cui è stata indotta la colite tramite somministrazione di 3 mg/Kg di DNBS (dinitrobenzene sulfonico) in una soluzione al 50% di etanolo in acqua per un volume totale di 100 microlitri. L'etanolo presente nella miscela causa la rottura della barriera epiteliale, il che permette al DNBS di penetrare. La soluzione è stata instillata nel colon distale con l'ausilio di un catetere intrarettale. I topi sono stati messi a digiuno il giorno precedente l'induzione, e da questo giorno fino a quello in cui sono stati sacrificati (dopo tre giorni dall'induzione) ne è stata monitorata la perdita di peso. Nel modello di colite da DNBS, dopo 3 giorni i linfociti T sono la popolazione cellulare più rappresentata nella lamina propria. Una volta sacrificati, dai topi abbiamo prelevato l'intestino per estrarne, tramite percol, i linfociti T dalla lamina propria, mentre una piccola sezione di intestino non ancora sottoposto alla procedura di estrazione dei linfociti T è stato utilizzato per analisi istologica con il fine di valutare l'entità dell'infiltrato.

I TOPI WT RISULTANO MENO SUCETTIBILI ALLA IBD RISPETTO AI GILZ-KO:



VALUTAZIONE DELL'INFILTRATO IN COLON WT E GILZ-KO DI TOPI CON IBD:

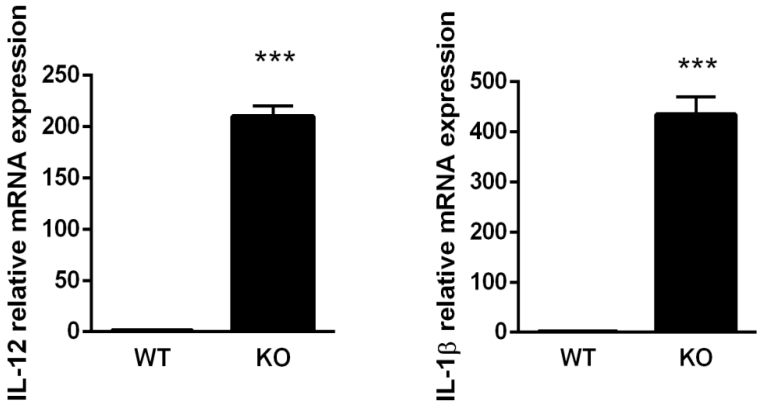
Le sezioni istologiche contenenti i colon provenienti dai topi con colite WT e GILZ KO, sono stati sottoposti a colorazione con ematossilina-eosina, questa analisi ha messo in evidenza la presenza di un maggiore infiltrato nel colon dei topi GILZ-KO rispetto ai WT.



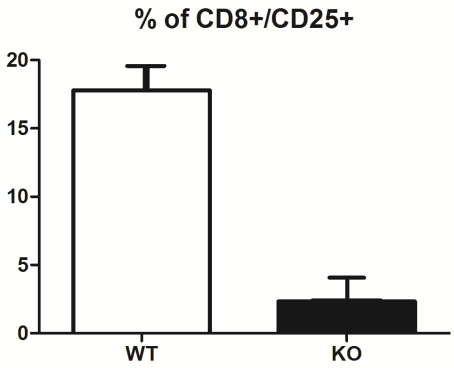
ANALISI CITOFLUORIMETRICA DEI LINFOCITI T SEPARATI DALLA LAMINA PROPRIA DI TOPI WT E GILZ-KO CON IBD

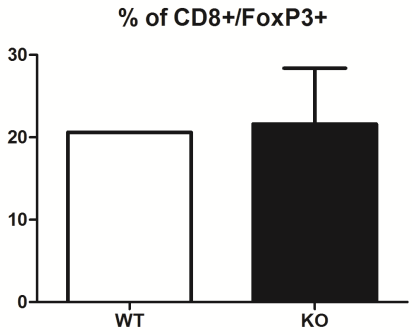
I linfociti T separati dalla lamina propria sono stati, in parte, colorati con anticorpi specifici verso marker di superficie e intracellulari caratteristici di queste cellule e analizzati tramite analisi citofluorimetrica; in parte utilizzati per valutarne l'espressione delle maggiori citochine pro-infiammatorie tramite Real-Time PCR.

L'espressione delle citochine pro-infiammatorie è risultata minore nei WT rispetto ai GILZ-KO :



I linfociti T isolati dalla lamina propria dei topi WT con colite mostrano una maggiore percentuale di cellule CD8+CD25+, ossia di cellule T citotossiche attivate, ma non di CD8+Foxp3+ rispetto ai GILZ-KO:





Questi dati ottenuti sono ancora preliminari ed è necessario effettuare un'analisi più complessa sulle cellule Treg CD8+ presenti nella lamina propria, ad esempio in giorni di malattia diversi da quelli analizzati, quando anche altri linfociti T, non solo quelli residenti, arrivano dal circolo nella lamina propria, per poter effettivamente rilevare l'importanza della proteina GILZ nell'attività dei CD8+ Treg.