

Relazione Bando FIAMO 2020 progetto “Studio dei meccanismi di azione del rimedio omeopatico *Drosera rotundifolia*: variazione dell’espressione genica in linee cellulari bronchiali epiteliali umane”

***Drosera rotundifolia* nelle cellule epiteliali bronchiali**

Le patologie delle vie aeree sono tra le malattie più comuni. La tosse è diventata un sintomo diffuso a tutte le età, con inquinanti atmosferici che contribuiscono allo sviluppo di malattie delle vie aeree superiori. L'uso del trattamento farmacologico senza effetti collaterali potrebbe essere utile, non solo per ridurre i sintomi della tosse, ma anche per prevenire gli effetti tossici dell'inquinamento. I farmaci omeopatici, ad esempio, sono ampiamente utilizzati per i sintomi del raffreddore e della tosse, per adulti e bambini.

Le specie di *Drosera* europee (*D. rotundifolia* L., *D. intermedia* Hayne, *D. anglica* Huds.) sono attualmente utilizzate come medicina tradizionale nella terapia di infezioni del tratto respiratorio. *Droserae* Herba, che è principalmente composta da *Drosera rotundifolia*, è comunemente usata per le sue proprietà spasmolitiche nel trattamento della tosse convulsa dal 17 ° secolo. Secondo la letteratura, le specie di *Drosera* contengono elevate concentrazioni di flavonoidi negli estratti etanolici (iperoside, isoquercitrina e quercetina, miricetina-3-O-galattoside) insieme ad acidi fenolici (acido ellagico). È stato riportato che i flavonoidi hanno proprietà antinfiammatorie, antiossidanti e antimicrobiche, efficaci nel trattamento delle malattie infettive orali.

Lo scopo di questo studio è di valutare l'effetto di una preparazione omeopatica di *D. rotundifolia* sul trascrittoma di cellule epiteliali bronchiali umane in vitro, usando la linea cellulare 16HBE. La trascrittomica, un componente importante della ricerca sulla genomica funzionale, può essere utilizzata per studiare l'espressione genica complessiva, che potrebbe essere il primo passo per rivelare specifici processi biologici e meccanismi molecolari coinvolti nell'insorgenza della malattia. Per questo studio, *D. rotundifolia* è stata utilizzata nella diluizione 3x, che è una delle più utilizzate in clinica e, essendo 1000 volte più diluita della tintura madre, prevediamo di ridurre gli effetti citotossici e di evidenziare l'azione farmacologica più specifica. Il primo obiettivo dello studio era scoprire i potenziali bersagli genici della *D. rotundifolia* mediante il sequenziamento del RNA messaggero.

Sequenziamento dell'RNA

I campioni di RNA sono stati preparati per il sequenziamento dal gruppo Piattaforma di Genomica e Trascrittomica presso il Centro Piattaforma Tecnologica dell'Università di Verona. La preparazione della libreria ha utilizzato l'RNA totale con il kit di preparazione della libreria TruSeq Stranded mRNA Illumina (Illumina, CA, USA). I campioni sono stati sequenziati utilizzando un Illumina NextSeq 500 (Illumina, CA, USA), con campioni ripetuti su due celle a flusso per ridurre l'errore tecnico e aumentare la profondità di lettura. I campioni sono stati sequenziati con un protocollo single end (75bp).

Mappatura e quantificazione

La funzione mapping-based di Salmon (versione 0.8.2) è stata utilizzata con la correzione del GC-bias e positionalbias correction abilitata. L'indice per la mappatura è stato creato dalla banca dati di ENSEMBL (ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-95/gtf/homo_sapiens/Homo_sapiens.GRCh38.95.gtf.gz).

Analisi dell'espressione differenziale

L'output di Salmon è stato importato nel software Rstudio (R versione 3.5.3; R studio versione 1.1.463). Ciò è stato eseguito tramite tximport (versione 1.10.10), che fa la conversione dei dati dei trascritti ai geni durante il processo di importazione. L'analisi dell'espressione differenziale è stata eseguita utilizzando DESeq2 (versione 1.22.2) utilizzando la funzione DESeq2 automatizzata. Dopo l'analisi differenziale, la funzione lfcShrink di DESeq2 è stata applicata. L'analisi è stata successivamente riassunta in un Volcanoplot (**Figura 1**), in cui il significato pAdjusted dei risultati dell'espressione differenziale viene confrontato con i valori di log2foldchange. Questi valori di significatività si basano su un test statistico di significatività di Wald.

Analisi funzionale

Al fine di associare una funzione ai geni espressi in modo differenziale, è stato possibile accedere al database del consorzio gene ontology utilizzando il pacchetto gProfile2. L'elenco dei termini GO significativi è stato utilizzato per la costruzione delle network utilizzando il pacchetto ggplot2 e il software Cytoscape. I percorsi associati ai geni differenzialmente espressi sono stati analizzati in base alle informazioni del database dei percorsi dell'Enciclopedia dei geni e dei genomi di Kyoto KEGG). I percorsi mappati sono stati visualizzati utilizzando il pacchetto Pathview.

Convalida tecnica

Per valutare la qualità dei file grezzi Fastq è stato utilizzato il rapporto QC della sequenza ad alta produttività FastQC (versione 0.11.8).

Risultati e discussione

Usando il sequenziamento dell'RNA, gli effetti del trattamento con la *D. rotundifolia* 3x sull'espressione genica globale delle cellule 16HBE è stato studiato dopo 3 ore di incubazione. È stata eseguita un'analisi dell'espressione genica differenziale per identificare i geni target significativi del trattamento con la *D. rotundifolia* 3x. L'output di espressione differenziale ottenuto dall'analisi con DESeq2 ha mostrato un totale di 62 geni differenzialmente espressi (DEGs) e statisticamente significativi, di questi geni 40 sono up-regolati e 22 down-regolati. (**Tabela 1 e 2**)

ENSEMBL ID	Symbol	log2 Fold Change	lfcSE	baseMean	padj	Gene description
ENSG00000138061	<i>CYP1B1</i>	0.702	0.036	18306.85	2.5E-79	cytochrome P450 family 1 subfamily B member 1
ENSG00000163659	<i>TIPARP</i>	0.607	0.062	3055.70	7.7E-19	TCDD inducible poly(ADP-ribose) polymerase
ENSG00000124882	<i>EREG</i>	0.437	0.069	3248.29	1.5E-07	epiregulin
ENSG00000115008	<i>IL1A</i>	0.436	0.060	3083.65	1.4E-09	interleukin 1 alpha
ENSG00000197632	<i>SERPINB2</i>	0.413	0.062	2963.76	4.0E-08	serpin family B member 2
ENSG00000260261	<i>AC124944.3</i>	0.391	0.063	424.71	2.9E-07	programmed cell death 6 (PDCD6) pseudogene
ENSG00000118564	<i>FBXL5</i>	0.365	0.064	1637.91	1.3E-05	F-box and leucine rich repeat protein 5
ENSG00000109321	<i>AREG</i>	0.340	0.059	5103.51	6.4E-06	amphiregulin
ENSG00000182585	<i>EPGN</i>	0.335	0.064	1402.14	1.0E-04	epithelial mitogen
ENSG00000139289	<i>PHLDA1</i>	0.311	0.054	3077.59	7.9E-06	pleckstrin homology like domain family A member 1
ENSG00000235220	<i>HLA-F</i>	0.306	0.062	315.13	4.2E-04	major histocompatibility complex, class I, F
ENSG00000104361	<i>NIPAL2</i>	0.287	0.063	662.15	1.8E-03	NIPA like domain containing 2
ENSG00000119927	<i>GPAM</i>	0.277	0.070	1520.61	2.1E-02	glycerol-3-phosphate acyltransferase, mitochondrial
ENSG00000081041	<i>CXCL2</i>	0.273	0.070	525.50	2.8E-02	C-X-C motif chemokine ligand 2
ENSG00000277758	<i>FO681492.1</i>	0.266	0.051	96.38	3.2E-05	synaptotagmin-15
ENSG00000175414	<i>ARL10</i>	0.258	0.063	339.66	9.1E-03	ADP ribosylation factor like GTPase 10
ENSG00000120738	<i>EGR1</i>	0.256	0.046	3828.16	2.5E-05	early growth response 1
ENSG00000154639	<i>CXADR</i>	0.254	0.062	1339.05	1.4E-02	CXADR Ig-like cell adhesion molecule
ENSG00000087074	<i>PPP1R15A</i>	0.252	0.047	3208.72	7.8E-05	protein phosphatase 1 regulatory subunit 15A
ENSG00000178295	<i>GEN1</i>	0.248	0.054	1919.26	2.4E-03	GEN1 Holliday junction 5' flap endonuclease
ENSG00000139292	<i>LGR5</i>	0.247	0.054	102.30	1.8E-03	leucine rich repeat containing G protein-coupled receptor 5
ENSG00000136244	<i>IL6</i>	0.244	0.066	1010.05	5.0E-02	interleukin 6
ENSG00000005243	<i>COPZ2</i>	0.243	0.063	159.54	2.3E-02	COPI coat complex subunit zeta 2
ENSG00000235030	<i>IER3</i>	0.233	0.049	3086.81	1.1E-03	immediate early response 3
ENSG00000111912	<i>NCOA7</i>	0.230	0.043	7681.40	8.6E-05	nuclear receptor coactivator 7
ENSG00000118523	<i>CTGF</i>	0.229	0.060	1498.96	3.9E-02	cellular communication network factor 2
ENSG00000103995	<i>CEP152</i>	0.225	0.062	622.41	2.9E-02	centrosomal protein 152
ENSG00000159086	<i>PAXBP1</i>	0.221	0.057	1656.63	2.9E-02	PAX3 and PAX7 binding protein 1
ENSG00000102804	<i>TSC22D1</i>	0.212	0.048	2739.98	4.5E-03	TSC22 domain family member 1
ENSG00000108669	<i>CYTH1</i>	0.212	0.057	1860.07	5.0E-02	cytohesin 1
ENSG00000134294	<i>SLC38A2</i>	0.208	0.032	11532.92	1.0E-07	solute carrier family 38 member 2
ENSG00000103257	<i>SLC7A5</i>	0.194	0.030	35338.50	1.4E-07	solute carrier family 7 member 5
ENSG00000129474	<i>AJUBA</i>	0.181	0.042	5412.41	6.6E-03	ajuba LIM protein
ENSG00000100644	<i>HIF1A</i>	0.180	0.045	6302.38	1.8E-02	hypoxia inducible factor 1 subunit alpha
ENSG00000138434	<i>ITPRID2</i>	0.152	0.039	18731.03	3.4E-02	ITPR interacting domain containing 2
ENSG00000010310	<i>GIPR</i>	0.151	0.036	120.73	2.5E-03	gastric inhibitory polypeptide receptor
ENSG00000128272	<i>ATF4</i>	0.146	0.037	12347.69	2.4E-02	activating transcription factor 4
ENSG00000023445	<i>BIRC3</i>	0.137	0.037	13084.30	5.0E-02	baculoviral IAP repeat containing 3
ENSG00000206489	<i>PPP1R10</i>	0.106	0.026	26.98	1.0E-07	protein phosphatase 1 regulatory subunit 10
ENSG00000278516	<i>LENG1</i>	0.050	0.018	12.47	9.7E-04	leukocyte receptor cluster member 1
ENSG00000061455	<i>PRDM6</i>	0.032	0.019	21.63	1.4E-02	PR/SET domain 6
ENSG00000173503	<i>LTA</i>	0.028	0.016	15.34	2.9E-02	lymphotoxin alpha
ENSG00000189068	<i>VSTM1</i>	0.027	0.016	24.23	6.6E-03	V-set and transmembrane domain containing 1
ENSG00000275428	<i>AC024940.6</i>	0.026	0.016	23.11	3.3E-03	ovostatin 2

Tabella 1. Geni upregolati statisticamente significativi in cellule 16HBE trattate per 3 h con *D. rotundifolia* 3x. La tabella riporta l'identificazione del gene (ENSEMBL ID, simbolo e descrizione del gene), il grado dei cambiamenti di espressione media per i 4 esperimenti (log2FoldChange), l'errore standard del cambiamento (lfcSE), il valore di espressione medio espresso come lettura normalizzata dei conteggi (baseMean) e i valori p aggiustati (padj) corretti con il metodo Benjamini-Hochberg (BH).

ENSEMBL ID	Simbolo	log2Fold Change	lfcSE	baseMean	padj	descrizione
ENSG00000059804	<i>SLC2A3</i>	-0.510	0.070	2797.19	1.4E-09	solute carrier family 2 member 3
ENSG00000165507	<i>DEPPI</i>	-0.482	0.070	807.55	2.1E-08	DEPPI autophagy regulator
ENSG00000116285	<i>ERRFI1</i>	-0.384	0.064	5529.11	2.5E-06	ERBB receptor feedback inhibitor 1
ENSG00000168209	<i>DDIT4</i>	-0.323	0.065	4188.35	3.7E-04	DNA damage inducible transcript 4
ENSG00000146830	<i>GIGYF1</i>	-0.322	0.068	2461.89	1.2E-03	GRB10 interacting GYF protein 1
ENSG00000183691	<i>NOG</i>	-0.303	0.070	430.04	5.2E-03	noggin
ENSG00000204267	<i>TAP2</i>	-0.297	0.070	824.16	9.1E-03	transporter 2, ATP binding cassette subfamily B member
ENSG00000213859	<i>KCTD11</i>	-0.284	0.063	1506.09	2.8E-03	potassium channel tetramerization domain containing 11
ENSG00000169992	<i>NLGN2</i>	-0.273	0.068	1214.66	1.6E-02	neuroligin 2
ENSG00000171345	<i>KRT19</i>	-0.269	0.050	30099.26	8.1E-05	keratin 19
ENSG00000148926	<i>ADM</i>	-0.266	0.070	392.45	3.9E-02	adrenomedullin
ENSG00000177606	<i>JUN</i>	-0.260	0.062	1999.96	9.1E-03	Jun proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit
ENSG00000145331	<i>TRMT10A</i>	-0.259	0.068	387.61	3.8E-02	tRNA methyltransferase 10A
ENSG00000135636	<i>DYSF</i>	-0.253	0.056	2045.20	2.7E-03	dysferlin
ENSG00000099308	<i>MAST3</i>	-0.253	0.066	455.28	2.9E-02	microtubule associated serine/threonine kinase 3
ENSG00000113369	<i>ARRDC3</i>	-0.244	0.059	942.12	1.4E-02	arrestin domain containing 3
ENSG00000104517	<i>UBR5</i>	-0.235	0.056	3357.96	1.0E-02	ubiquitin protein ligase E3 component n-recogin 5
ENSG00000186352	<i>ANKRD37</i>	-0.222	0.049	73.34	1.2E-03	ankyrin repeat domain 37
ENSG00000146674	<i>IGFBP3</i>	-0.204	0.053	22877.33	3.3E-02	insulin like growth factor binding protein 3
ENSG00000115524	<i>SF3B1</i>	-0.203	0.039	11529.03	1.2E-04	splicing factor 3b subunit 1
ENSG00000070614	<i>NDST1</i>	-0.175	0.036	13053.04	1.0E-03	N-deacetylase and N-sulfotransferase 1
ENSG00000232070	<i>TMEM253</i>	-0.113	0.028	38.83	1.4E-05	transmembrane protein 253
ENSG00000241370	<i>RPP21</i>	-0.056	0.019	14.73	5.3E-04	ribonuclease P/MRP subunit p21
ENSG00000282752	<i>CTDP1</i>	-0.040	0.018	14.79	3.9E-02	CTD phosphatase subunit 1
ENSG00000069188	<i>SDK2</i>	-0.029	0.013	8.71	1.2E-02	sidekick cell adhesion molecule 2

Tabella 2. Geni downregolati statisticamente significativi in cellule 16HBE trattate per 3 h con *D. rotundifolia* 3x. Vedere **Tabella 1** per la descrizione.

Per comprendere meglio le funzioni dei geni trovati, è stata eseguita un'analisi funzionale utilizzando la Gene Ontology (GO). I DEGs sono stati arricchiti principalmente in processi biologici, tra cui funzioni generali come "risposta alla regolazione dello stimolo" che comprende attività biologiche più specifiche, come lo "sviluppo vascolare" e "regolazione positiva della produzione di fattori di crescita endoteliale vascolare". Un gruppo di 10 geni è stato associato alla funzione "proliferazione delle cellule epiteliali" e altri 8 geni con GO specifici relativi alla regolazione epiteliale. Un gruppo di DEGs è stato associato alla produzione di citochine, suggerendo un possibile ruolo nell'immunità. Altri processi che coinvolgono in modo significativo i geni target sono la "regolazione della morte cellulare" e la "regolazione positiva del ciclo cellulare mitotico", che suggerisce un recupero del tessuto epiteliale. (**Tabella 3**)

GO term	Processo biologico	p-value	n. genes	DEGs
GO:0010575	positive regulation of vascular endothelial growth factor production	8.24E-05	5	<i>CYP1B1, IL1A, HIF1A, ATF4, IL6</i>
GO:0048583	regulation of response to stimulus	0.003206	34	<i>CYP1B1, IL1A, SERPINB2, PPP1R10, EREG, ERFF11, AREG, EGRI, PPP1R15A, NCOA7, EPGN, DDIT4, HLA-F, IER3, LGR5, GIPR, DYSF, NOG, AJUBA, JUN, UBR5, ARRDC3, CXADR, NLGN2, HIF1A, GPAM, ATF4, LTA, IGFBP3, CTDPI, ADM, BIRC3, CYTH1, IL6</i>
GO:0050673	epithelial cell proliferation	0.003256	10	<i>EREG, ERFF11, AREG, EPGN, LGR5, DYSF, NOG, JUN, HIF1A, IGFBP3</i>
GO:0042035	regulation of cytokine biosynthetic process	0.005926	4	<i>IL1A, EREG, ERFF11, EGRI</i>
GO:1901184	regulation of ERBB signalling pathway	0.008551	4	<i>EREG, ERFF11, AREG, EPGN</i>
GO:0001944	vasculature development	0.011299	13	<i>CYP1B1, TIPARP, IL1A, EREG, ERFF11, EGRI, EPGN, DYSF, NOG, JUN, HIF1A, ADM, IL6</i>
GO:0001819	positive regulation of cytokine production	0.014852	10	<i>CYP1B1, IL1A, EREG, EGRI, HLA-F, HIF1A, ATF4, LTA, BIRC3, IL6</i>
GO:0045931	positive regulation of mitotic cell cycle	0.017961	5	<i>IL1A, PPP1R10, EREG, EPGN, GEN1</i>
GO:0050678	regulation of epithelial cell proliferation	0.02095	8	<i>EREG, ERFF11, AREG, EPGN, DYSF, NOG, JUN, HIF1A</i>
GO:0010941	regulation of cell death	0.021917	19	<i>CYP1B1, IL1A, SERPINB2, PPP1R10, PHLDA1, EGRI, NCOA7, DDIT4, HLA-F, IER3, NOG, JUN, HIF1A, ATF4, LTA, IGFBP3, ADM, BIRC3, IL6</i>
GO:0001568	blood vessel development	0.038694	12	<i>CYP1B1, TIPARP, IL1A, EREG, EGRI, EPGN, DYSF, NOG, JUN, HIF1A, ADM, IL6</i>
GO:0050679	positive regulation of epithelial cell proliferation	0.049145	6	<i>AREG, EPGN, DYSF, NOG, JUN, HIF1A</i>

Tabella 3. Processi biologici rappresentativi e geni associati a espressione differenziale (DEG) in cellule 16HBE trattate con *D. rotundifolia* 3x per 3 h. La tabella riporta l'identificazione dei processi biologici arricchiti (GO term e nome del processo biologico), il numero di geni differenzialmente espressi appartenenti a ciascun processo biologico e i loro simboli. I valori di *p* indicano il significato dell'arricchimento ottenuto con l'algoritmo g_SCS dell'analisi gprofiler2.

Alcuni geni rappresentativi e molto ben espressi sono stati selezionati per studiare la cinetica degli effetti di *D. rotundifolia* 3x nel tempo del trattamento cellulare. Gli esperimenti hanno dimostrato che l'effetto di *D. rotundifolia* sull'espressione genica, nella maggior parte dei geni inizia già a due ore, si esprime in un grado superiore dopo 6 ore, mentre decade a 24 ore. A seguito di questi risultati, è stato deciso di studiare questi cambiamenti eseguendo un nuovo RNA-seq per i campioni incubati per 6 ore con *D. rotundifolia* 3x. L'output di DESeq2 ha generato un elenco di 495 DEGs per cellule 16HBE dopo 6 ore di trattamento con *D. rotundifolia* 3x rispetto al controllo, che contiene una prevalenza di geni up-regolati (334) (**Figura 1**). I DEGs mostrano che esiste un simile effetto stimolante del trattamento con la *D. rotundifolia* 3x per 6 ore rispetto al trattamento per 3 ore.

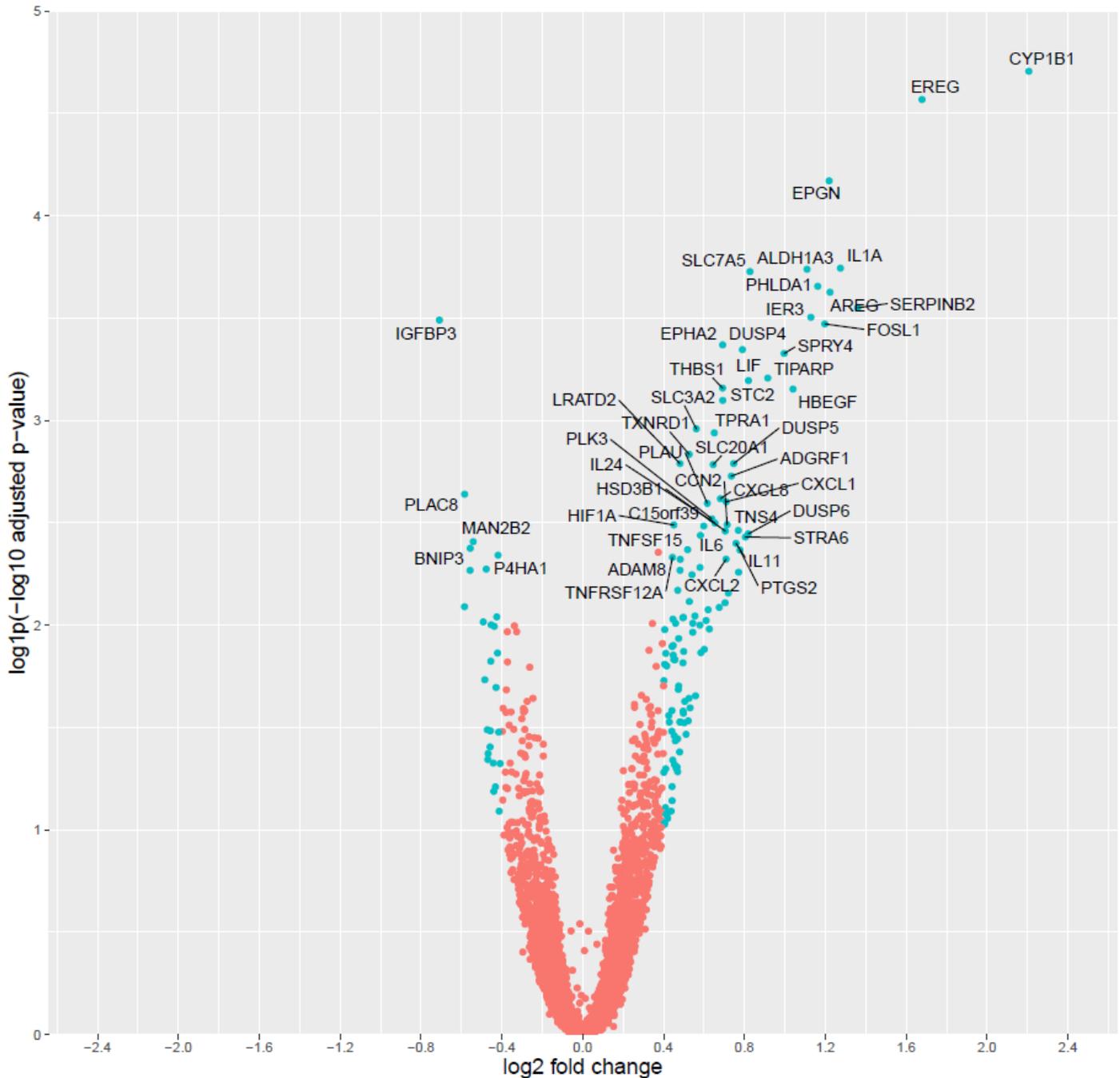


Figura 1. Volcano plot dell'analisi dell'espressione differenziale delle cellule 16HBE trattate con *D. rotundifolia* 3x per 6 h. I punti sparsi rappresentano i geni: l'asse x è il log₂foldchange per le cellule 16HBE trattate con *D. rotundifolia* 3x. L'asse y mostra il log₁p(-log₁₀ aggiustato p-value), che evidenzia meglio i geni differenzialmente espressi nelle nostre condizioni sperimentali. I punti blu rappresentano i geni che sono stati espressi in modo significativamente differenziale (valore p aggiustato <0,05) con un log₂foldchange <-0,4 o >0,4 dopo 6 ore di trattamento con *D. rotundifolia* 3x.

I geni espressi in modo differenziato sono stati ordinati in base al significato del *p*-value ed è stato eseguito una analisi di arricchimento funzionale. Processi biologici arricchiti simili sono stati trovati dopo 6 ore e 3 ore di trattamento con la *D. rotundifolia*, come funzioni legate allo sviluppo dei vasi

sanguigni, regolazione della proliferazione delle cellule epiteliali e produzione di citochine. Inoltre, è stato visto un aumento dei processi biologici correlati all'infiammazione e alla chemiotassi dopo 6 ore di trattamento con la *D. rotundifolia*, a causa della sovraregolazione di citochine e chemochine aggiuntive (Figura 2).

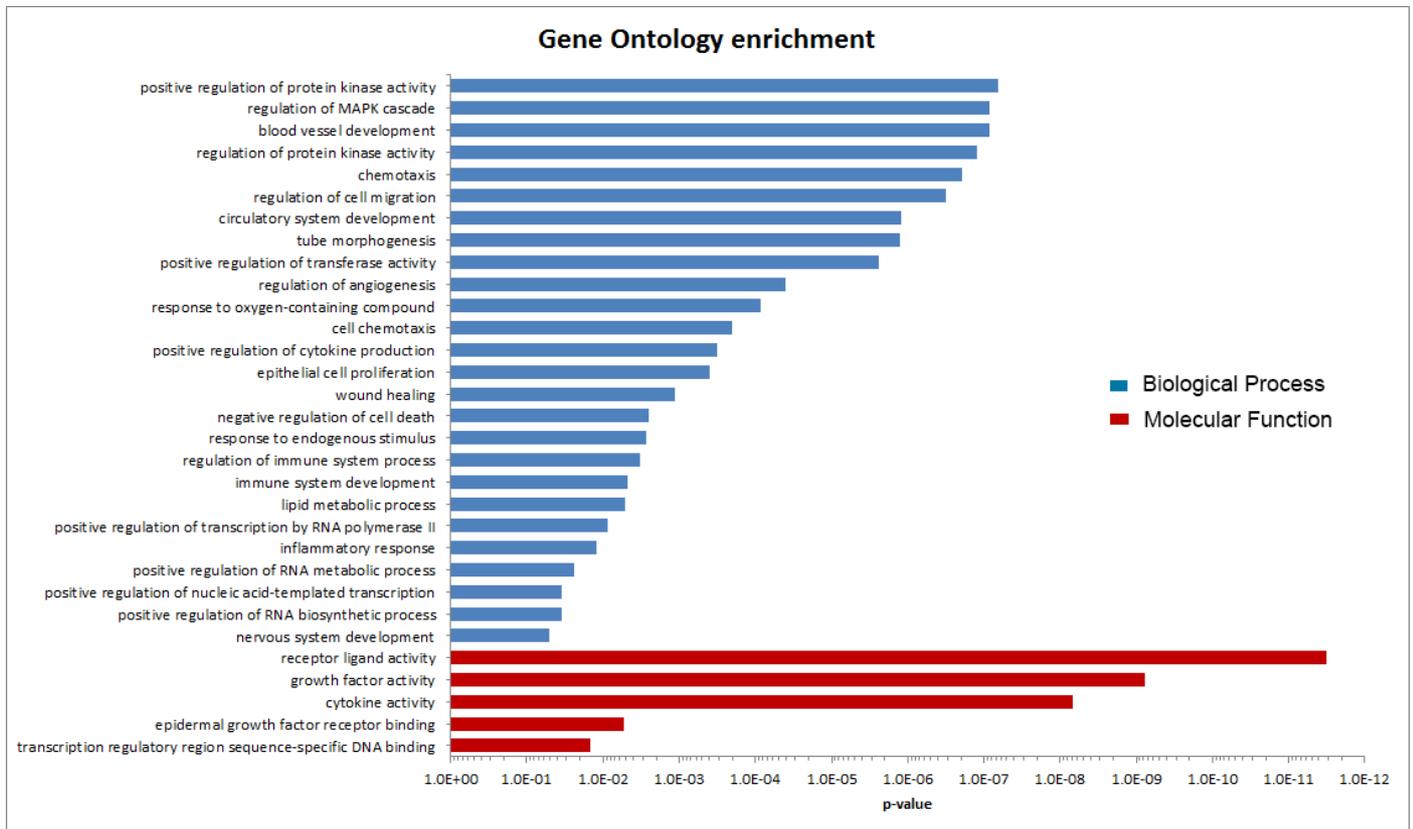


Figura 2. Classificazioni di gene ontology rappresentative dei geni differenzialmente espressi in cellule 16HBE trattate con *D. rotundifolia* 3x. I geni differenzialmente espressi sono stati classificati in due categorie: processi biologici e funzioni molecolari. L'analisi dell'arricchimento dell'ontologia genica è stata eseguita utilizzando la funzione "gost" dal pacchetto gprofiler2 in base all'elenco dei geni classificato in base al valore p aggiustato. I termini GO con p-value <0,05 sono stati considerati significativi.

Per tracciare un quadro funzionale delle funzioni arricchite e delle loro correlazioni, è stata costruita una rete che associa i geni alle funzioni nel modello biologico delle cellule epiteliali bronchiali (**Figura 3**). Le funzioni sono rappresentative e sono state scelte in base al nostro modello sperimentale e al valore p di arricchimento.

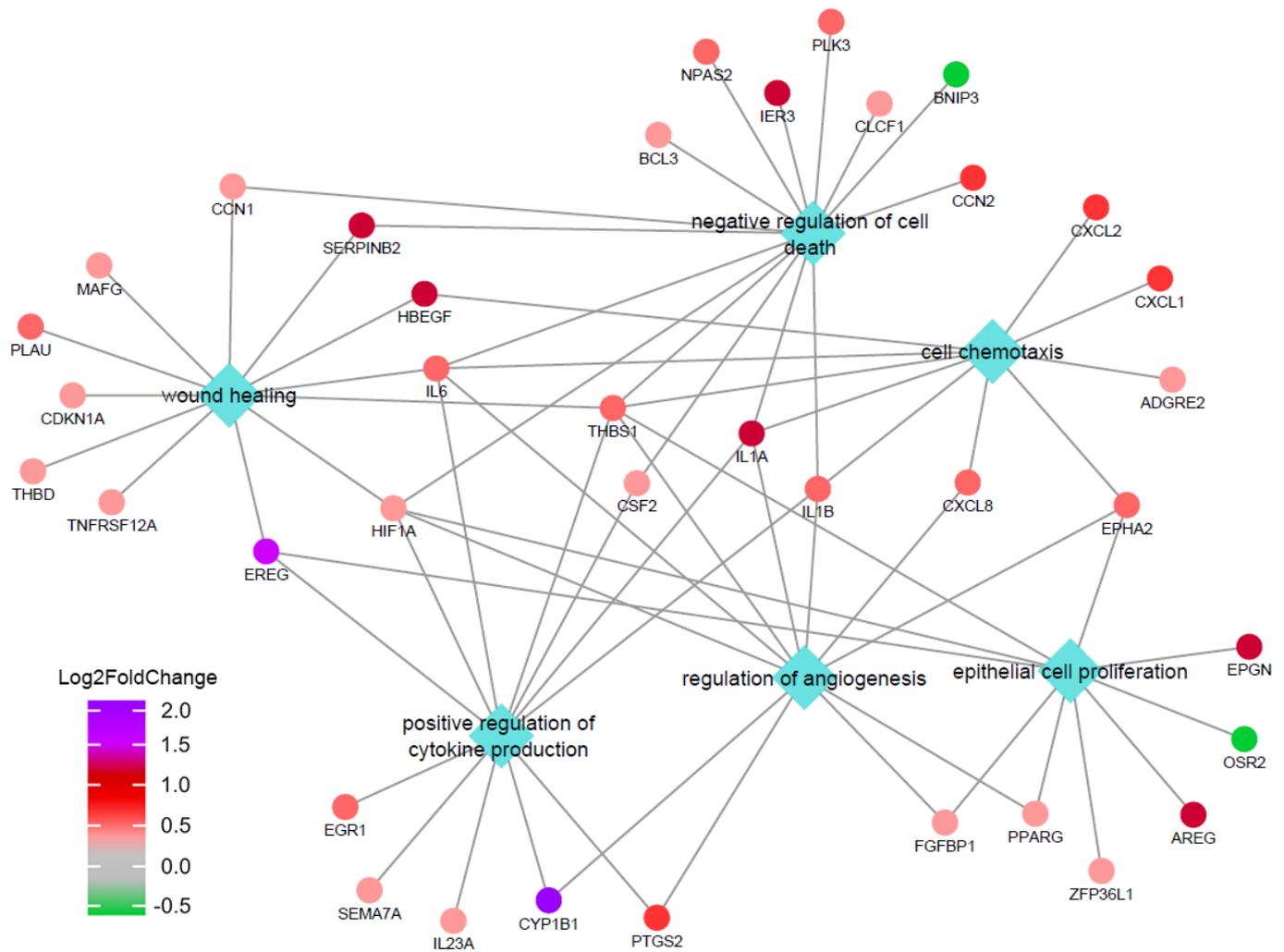


Figura 3. Network funzionale di processi biologici arricchiti e geni associati. La rete è stata costruita utilizzando i termini GO significativi selezionati mostrati nella Figura 2, che sono stati caricati nel software Cytoscape. I diamanti indicano processi biologici e i cerchi indicano geni associati. Oltre alle connessioni tra i geni e le funzioni biologiche, la distanza tra i nodi e tra i geni rappresenta quanto possono essere correlati uno con l'altro.

In questo studio, la ricerca genomica funzionale è stata applicata per esplorare gli effetti di una pianta medicinale, tradizionalmente utilizzata per le malattie respiratorie, sulla sua potenziale cellula bersaglio *in vitro*, vale a dire le cellule epiteliali bronchiali. Utilizzando un approccio ambizioso in questo campo di ricerca, questo studio dimostra che è possibile studiare l'induzione globale dell'espressione di mRNA a partire da un medicinale diluito.

Questo studio presenta alcuni limiti poiché parte dei risultati si basano sull'analisi bioinformatica, sull'espressione di mRNA ed esperimenti funzionali sono necessari per verificare i meccanismi di azione e gli effetti del trattamento con la *D. rotundifolia*. Inoltre, un gran numero di geni che sono stati trovati espressi in modo differenziato non sono stati interamente trattati in questo studio.

In conclusione, questo studio mostra un quadro generale dei cambiamenti dell'espressione dell'mRNA nelle cellule 16HBE trattate con *D. rotundifolia* 3x. Questi dati rivelano una funzione complessa e sfaccettata dell'azione della pianta sui diversi strati della mucosa bronchiale: si osserva un'azione diretta sulla cellula epiteliale che viene difesa nella sua integrità rispetto alle sostanze tossiche e stimolata nella sua capacità riparativa. Inoltre, le cellule epiteliali emettono segnali molecolari che attivano una lieve risposta infiammatoria con il reclutamento delle cellule delle difese innate e dell'angiogenesi.

In effetti, il livello di regolazione genica rappresenta solo un primo passo funzionale dell'azione della pianta che abbiamo evidenziato, e le nostre ipotesi dovranno essere confermate con studi adeguati su animali da laboratorio per studiare il potenziale terapeutico e i meccanismi di azione di questa pianta della tradizione omeopatica.