

## Progetto di ricerca

### **Titolo: Studio *in vitro* degli effetti di composti di origine naturale su modelli cellulari di intestino umano**

L'epitelio intestinale umano svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi dell'organismo, regolando l'assorbimento dei nutrienti, la funzione di barriera e l'interazione con il sistema immunitario mucosale. L'equilibrio tra integrità strutturale dell'epitelio, organizzazione delle giunzioni intercellulari e controllo della risposta immunitaria innata è essenziale per prevenire l'instaurarsi di condizioni infiammatorie a livello intestinale, per il mantenimento dell'omeostasi intestinale e per il controllo dei processi infiammatori locali (Turner, 2009; Peterson e Artis, 2014). Numerosi studi hanno evidenziato come componenti di origine vegetale o naturale possano modulare i processi infiammatori intestinali, influenzando la vitalità delle cellule epiteliali e immunitarie, la funzione di barriera e la produzione di mediatori pro- e anti-infiammatori. In particolare, composti bioattivi di origine alimentare, quali polifenoli e altri metaboliti naturali, sono stati associati a un miglioramento dell'integrità della barriera intestinale e a una riduzione dello stato infiammatorio basale (Camilleri et al., 2012; Aleman et al., 2023).

In questo contesto, l'impiego di modelli cellulari *in vitro* rappresenta uno strumento efficace per valutare in modo controllato gli effetti di composti di origine naturale sull'infiammazione intestinale. L'utilizzo combinato di modelli cellulari bidimensionali e di modelli tridimensionali di intestino umano ricostruito consente di analizzare sia gli effetti diretti sui diversi tipi cellulari sia le interazioni cellula-cellula che contribuiscono alla risposta infiammatoria dell'epitelio, come riportato in studi che analizzano l'interazione tra barriera intestinale e sistema immunitario mucosale (Blander et al., 2017).

L'obiettivo di questo lavoro è quello di studiare come composti di origine vegetale o naturale possano influenzare l'infiammazione intestinale e la funzione di barriera dell'epitelio intestinale umano, attraverso saggi di vitalità, analisi funzionali e modelli tridimensionali avanzati.

### **Piano di attività**

Il piano di attività si articolerà attraverso le seguenti fasi:

#### *1) Saggi di vitalità su modelli cellulari intestinali*

Gli effetti di diversi composti estratti da matrici vegetali o di origine naturale sulla proliferazione e sulla vitalità cellulare saranno valutati utilizzando linee cellulari rappresentative delle principali componenti del tessuto intestinale umano. In particolare, verranno impiegate linee di enterociti, fibroblasti e monociti. In una fase iniziale, la citotossicità dei composti sarà analizzata mediante saggio MTT, attualmente uno dei test di riferimento per la valutazione della tossicità cellulare, accompagnato a saggi di vitalità ed eventuale morte cellulare, quali studi di apoptosi o autofagia. Successivamente, per indagare gli effetti dei composti selezionati sulla componente infiammatoria, verrà valutata la capacità di indurre la migrazione dei monociti in modelli di cocoltura con cellule intestinali.

#### *2) Effetti dei composti selezionati su modelli tridimensionali di intestino umano ricostruito*

Gli effetti dei composti selezionati sull'infiammazione dell'intestino umano saranno analizzati mediante l'impiego di modelli tridimensionali di intestino umano ricostruito. I modelli tridimensionali di intestino verranno ottenuti seminando enterociti su dermi ricostruiti, generati dalla combinazione di fibroblasti e monociti umani all'interno di una matrice di collagene (Truzzi et al., 2023). Sui modelli di intestino ricostruito, trattati con gli estratti selezionati, verranno valutati i seguenti parametri: (i) integrità dell'epitelio intestinale; (ii) espressione delle proteine delle Tight Junction, caratteristiche delle connessioni cellula-cellula dell'epitelio intestinale; (iii) attivazione delle cellule del sistema immunitario innato; (iv) espressione di citochine pro- e anti-infiammatorie; (v) rilascio di muco.

#### *3) Elaborazione statistica dei dati ottenuti*

Tutti i dati rilevati dalle analisi sopra descritte saranno elaborati statisticamente tramite modelli lineari, modelli lineari generalizzati misti e statistica multivariata.

### **Bibliografia**

- Aleman RS, Moncada M, Aryana KJ. Leaky gut and the ingredients that help treat it: a review. *Nutrients*. 2023;15(2):619.
- Blander JM, Longman RS, Iliev ID, Sonnenberg GF, Artis D. Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nat Immunol*. 2017;18(8):851–860.
- Camilleri M, Madsen K, Spiller R, Greenwood-Van Meerveld B, Verne GN. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(6):503–512.
- Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(3):141–153.
- Truzzi F, Diloo S, Chang X, Whittaker A, D'Amen E and Dinelli G. Basic Three-Dimensional (3D) Intestinal Model System with an Immune Component. *J Vis Exp*. 2023 Sep 1:(199).
- Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(11):799–809.