

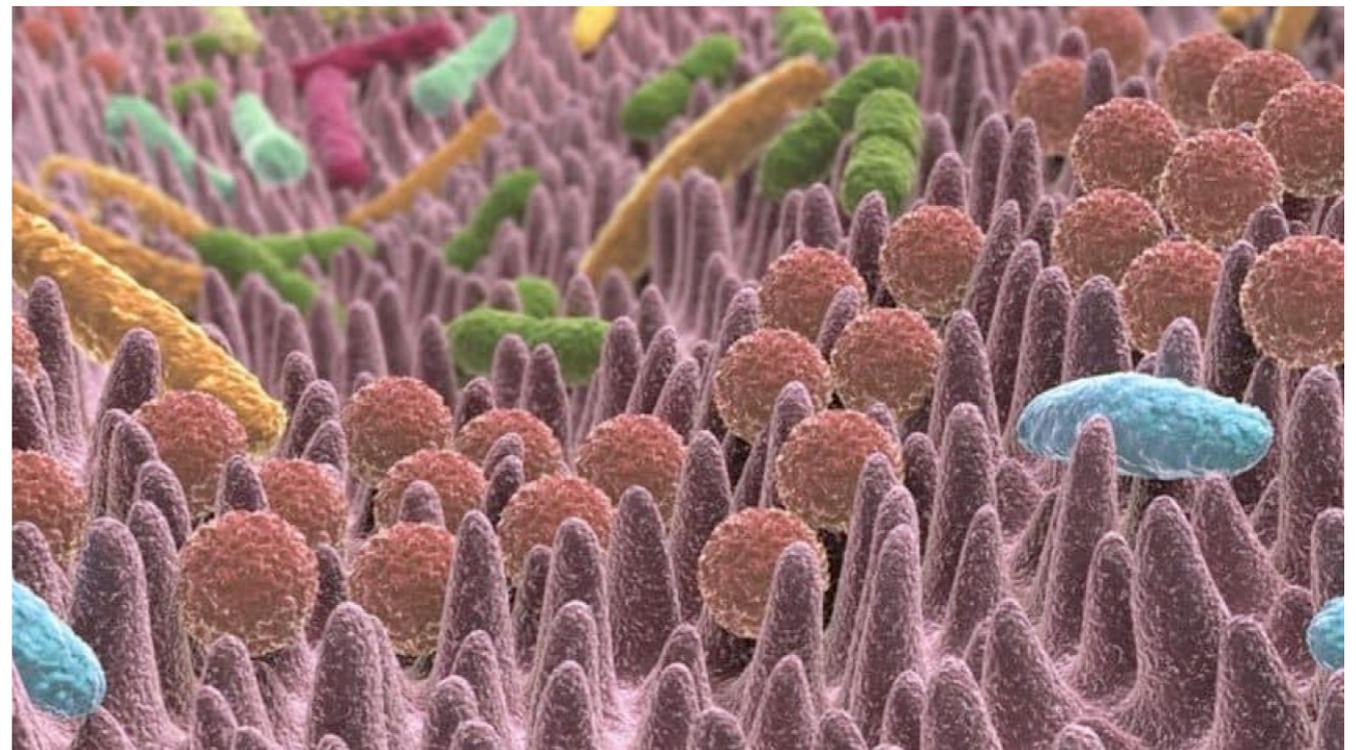


UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
TUSCIA

DIPARTIMENTO
PER LA INNOVAZIONE
NEI SISTEMI BIOLOGICI,
AGROALIMENTARI E FORESTALI

Potenziale uso di *Citrus bergamia* per la salute dell'uomo nello spazio: il microbioma salivare e intestinale quale modello sperimentale per lo sviluppo di integratori alimentari innovativi.

Valentina Laghezza Masci, Elisa Ovidi, Antonio Tiezzi e Francesco Canganella (Università della Tuscia – DIBAF); Stefania Garzoli (UNIROMA1 - DCTD); Laura Salvini (TLS, Siena); Marco Candela (Unibo - FaBiT); Renato Fani (Unifi-BIO); Michele Balsamo (Kayser Italia SRL)



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA



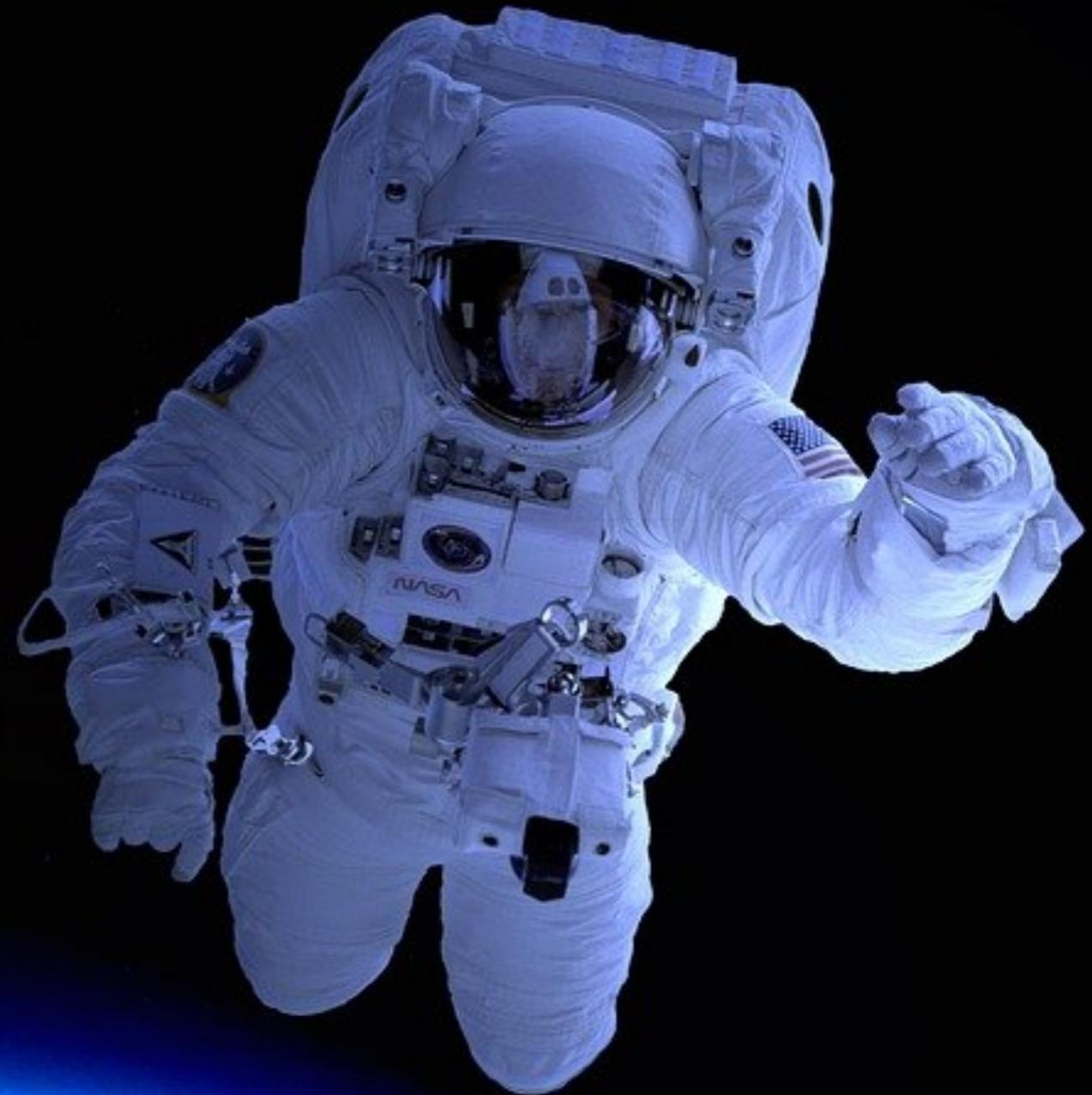
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

BIO
DIPARTIMENTO DI
BIOLOGIA





Stress ambientali (microgravità, radiazioni, etc.) e sociali (isolamento, ansia, mancanza di sonno) hanno dimostrato influire negativamente su diversi aspetti della salute degli Astronauti

Le comunità batteriche associate al microbioma d'intestino, pelle, naso e lingua degli Astronauti risultano variare quando esposte a tali condizioni

Il microbioma conferisce capacità metaboliche fondamentali per la sopravvivenza del suo ospite, per questo motivo è di grande importanza per la sua fisiologia

STUDI PREGRESSI

- Diversi studi sulla risposta alla microgravità di specie microbiche dell'ecosistema intestinale umano sono state condotte in passato.
- Nell'ambito del programma MARS500 dell'ESA, simulazione di lunga durata di una missione su Marte, un esteso monitoraggio molecolare del microbioma salivare e intestinale dei volontari coinvolti ha consentito di trarre importanti osservazioni sulla dinamica del microbioma.
- A livello del microbioma intestinale è stata osservata la prevalenza di alcuni taxa rispetto ad altri, poi seguita da una normalizzazione una volta rientrati a Terra.



La microgravità influisce sull'omeostasi e la biochimica del microbioma. L'alterazione della microflora intestinale durante il volo spaziale può influenzare l'impatto sull'assunzione e l'assimilazione di energia e nutrienti, con conseguenze sul metabolismo intermedio e sul sistema immunitario.



Il mantenimento del microbioma intestinale è molto importante per la salute dell'equipaggio

Gli effetti della microgravità sulla diversità batterica, così come lo squilibrio che gli astronauti sviluppano nella microflora intestinale, sono aspetti che andrebbero approfonditi.

PROPRIETÀ DELLE PIANTE

PRINCIPI ATTIVI e FITOCOMPLESSI

ATTIVITÀ BIOLOGICHE

MEDICINA TRADIZIONALE

FARMACOGNOSIA



Citrus bergamia Risso et Poiteau ("Bergamotto")

Famiglia: Rutaceae

Sottofamiglia: Esperidea

Distribuzione : Italia meridionale (Calabria). Grecia, Canarie o Antille

Preparati erboristici: olio essenziale e succo.

Applicazioni: profumi, cosmesi, industria alimentare e nutraceutica, farmacologica.

Attività biologiche: antinfiammatori; antiossidanti; prevenzione del cancro, dell'infiammazione, dell'aterosclerosi e delle malattie neurodegenerative.

Composizione: 93-96% composti volatili (monoterpeni quali il limonene ma anche linalolo e acetato di linalile) e non volatili (polifenoli quali i flavonoidi, ma anche pigmenti, cere, cumarine e psoraleni).



I flavonoidi derivati degli agrumi possiedono molteplici effetti benefici per la salute dell'uomo e sono ingredienti importanti per i prodotti nutraceutici e per gli alimenti funzionali

Alcuni flavanoni degli agrumi, quali l'esperidina e la nariginina, e i loro metaboliti (agliconi quali esperetina e naringenina) sono in grado di influenzare la composizione e l'attività del microbiota e di esercitare un'azione benefica sul sistema immunitario

I polifenoli contenuti negli agrumi sono risorse importanti per lo sviluppo di composti bioattivi negli alimenti funzionali

LE FUNZIONI DEI COMPONENTI DI ORIGINE VEGETALE DIPENDONO DALLA LORO STRUTTURA CHIMICA

PROPOSTA PROGETTUALE

La nostra proposta progettuale prevede lo studio degli effetti dell'estratto del frutto di *C. bergamia* sul microbioma salivare e intestinale degli astronauti, con l'obiettivo di valutare:

- i) se questo prodotto possa essere utilizzato come integratore alimentare funzionale a sostegno della salute degli Astronauti
- ii) se abbia effetti sia sulla composizione del microbiota intestinale sia sull'adesione dei probiotici



LO SVILUPPO D'INTEGRATORI ALIMENTARI FUNZIONALI, SOSTENUTI DAI DATI RILEVATI IN QUESTA PROPOSTA PROGETTUALE, POTREBBE PORTARE ALLA PRODUZIONE DI INTEGRATORI CON *DUAL USE*, OVVERO INTEGRATORI UTILIZZABILI SIA PER MISSIONI SPAZIALI SIA A TERRA

ATTIVITÀ PROPOSTE



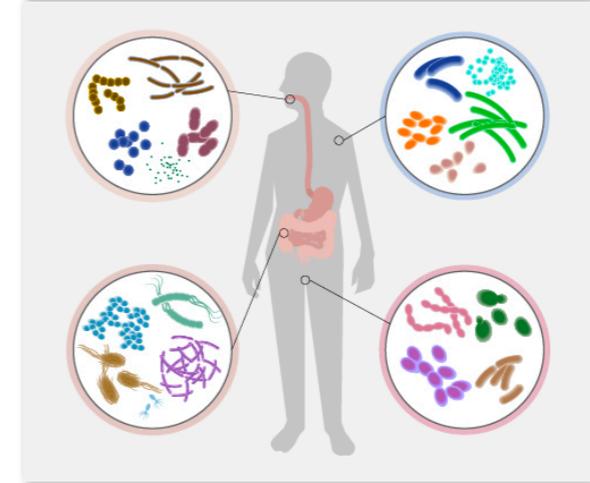
Azione Sperimentale 1

CARATTERIZZAZIONE FISICO-
CHIMICA DELLA MATRICE E
DEGLI ESTRATTI DI
C. BERGAMIA



Azione Sperimentale 2

CO-CULTURE DI CELLULE
CACO-2 E PROBIOTICI



Azione Sperimentale 3

CAMPIONAMENTO
SALIVARE E FECALE

Ogni azione sperimentale sarà preceduta da diverse fasi di verifica sperimentale multidisciplinare.



TEAM

La strutturazione del Team in termini di gruppi di ricerca raccoglie le competenze richieste nell'ambito della proposta sperimentale presentata: microbiologia degli ambienti estremi e spaziale, microbiologia degli alimenti e probiotici, microscopia e biologia cellulare, chimica e fisica analitica, biologia molecolare del microbioma intestinale e salivare, biodiversità molecolare, nutraceutica e integratori funzionali, progettazione e integrazione di sistemi sperimentali per il volo spaziale.



Azione Sperimentale 1

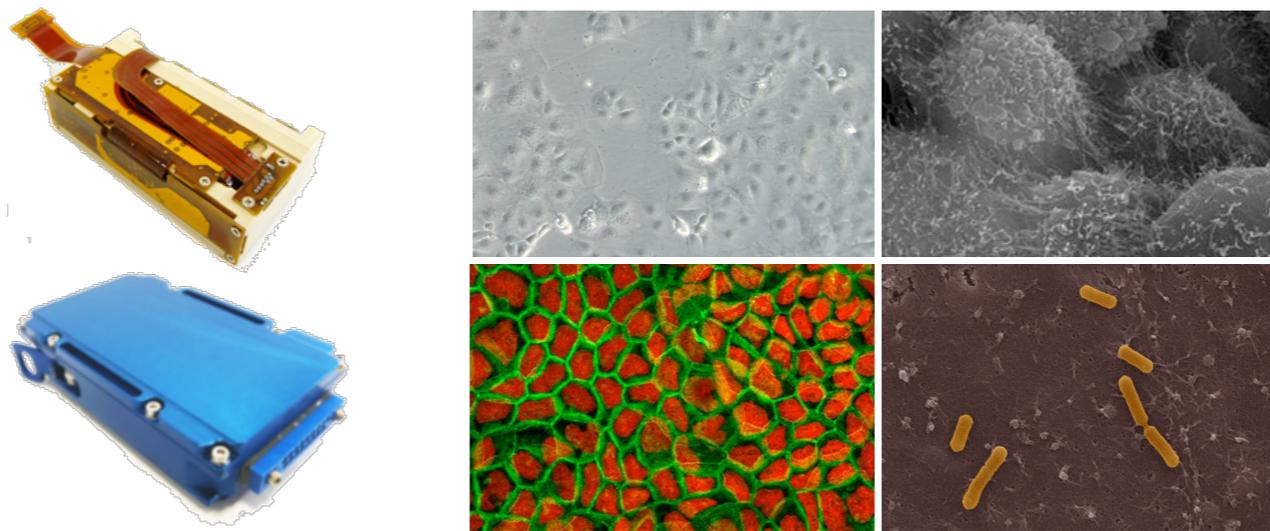
- Messa a punto del set sperimentale in funzione del payload dedicato.
- Esposizione passiva sia della matrice secca (sia tal quale che quale preparato nutraceutico) sia degli estratti di *C. bergamia* alla microgravità durante la missione di volo in presenza di dosimetri e data loggers per misurazione di radiazioni e temperatura.
- Caratterizzazione mediante gas cromatografia e cromatografia liquida interfacciata a spettrometria di massa in alta risoluzione della matrice e degli estratti di *C. bergamia*.
- Confronto tra i dati ottenuti da campioni mantenuti in presenza di microgravità e radiazioni (in volo) e campioni mantenuti a terra (in condizioni analoghe a quelle utilizzate in volo).
- L'esperienza in volo avrà una durata minima di 45 gg, ma un eventuale prolungamento della missione di volo, con conseguente maggiore permanenza a bordo del payload, rappresenterebbe un plus scientifico potendo i) mettere meglio in evidenza eventuali modificazioni fisico-chimiche e ii) dare maggior significatività all'intero studio sperimentale.



contenitore Biokon con data blogger e dosimetri

Azione Sperimentale 2

- Esperimenti *in vitro*, sia a terra che a bordo della ISS sugli effetti di estratto di *C. bergamia* su co-culture di cellule intestinali (Caco-2) e probiotici.
- Individuazione di probiotici commerciali adatti per essere utilizzati in sospensione liquida e alla temperatura richiesta, e con buone capacità di adesione all'epitelio intestinale.
- Messa a punto e verifica in laboratorio delle condizioni sperimentali dettagliate (materiali e metodi) e dei protocolli operativi, rispettosi dei requisiti per la sicurezza e l'operatività a bordo della ISS, sia per l'esperimento in volo che per il controllo a terra.
- Refurbishment dell'hardware EU STROMA e KIC-SL (bioreattori e contenitori sperimentali). A tal proposito saranno effettuati dei test di funzionalità sui bioreattori Scientific Models (SM), Ground Models (GM) e Flight Models (FM), per avere garanzia del corretto refurbishment meccanico ed elettronico.
- Processamento dei campioni di cellule Caco-2 e probiotici, trattati e non con estratto funzionale di *C. bergamia*, per analisi morfologica (microscopia elettronica e a fluorescenza) e per analisi di proteomica differenziale mediante LC-MS/MS e successiva elaborazione bioinformatica.



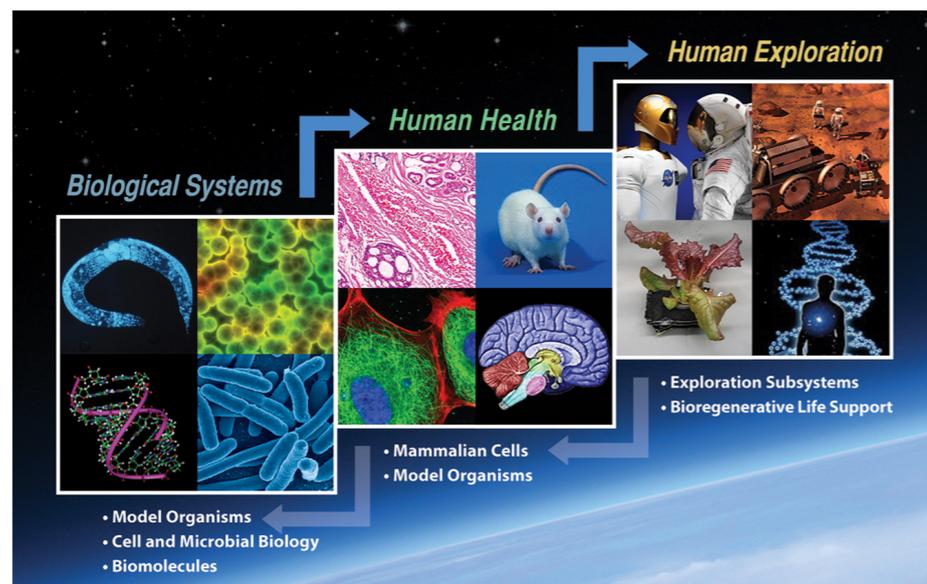
Azione Sperimentale 3

- Studio della dinamica del microbiota intestinale e salivare dei membri dell'equipaggio nelle fasi pre-, in- e post-volo.
- Raccolta di un campione di feci e di saliva, nelle fasi pre-, in- e post-volo, per ciascun membro dell'equipaggio. I prelievi verranno effettuati durante la missione di volo (al tempo +15 e +45 giorni), durante i 3 mesi precedenti e successivi alla missione (un prelievo per ciascun Astronauta ogni 15 giorni). Conservazione dei campioni a -20°C dal momento del loro prelievo, per tutte le fasi sperimentali.
- Caratterizzazione mediante tecniche di metabarcoding e shotgun metagenomics (su piattaforma Illumina) del DNA microbico totale estratto da campioni fecali e di salivari.
- Su una selezione dei campioni fecali raccolti, verranno inoculati dei gut models, consentendo di studiare l'interazione ex-post del microbiota intestinale degli Astronauti con gli estratti di *C. bergamia* per valutare eventuali effetti sulla struttura, composizione e diversità del microbiota intestinale.
- Determinazione degli SFCA (Short-Chain Fatty Acid) dei campioni fecali per avviare una procedura comparativa dei dati tra la fase pre- e post-volo.



- ✓ L'integrazione di prebiotici/probiotici potrebbe rivelarsi una contromisura efficace sia a titolo preventivo sia terapeutico.
- ✓ La somministrazione di probiotici fornisce un rafforzamento della barriera intestinale con benefici a carico del sistema immunitario e addirittura a una positiva stimolazione del sistema cerebrale, in particolare per la componente emozionale e anti-stress.
- ✓ L'uso di fitonutrienti, integratori vitaminici e di micronutrienti per integrare l'approccio nutrizionale e per migliorare le condizioni di salute degli Astronauti e contrastare potenziali effetti negativi dovuti alle condizioni di stress è già in atto da qualche anno.

NEL COMPLESSO LO STUDI QUI PROPOSTO DA UN LATO CI CONSENTIRÀ DI APPROFONDIRE ASPETTI FISICO-CHIMICI E FUNZIONALI DEGLI ESTRATTI DI *C. BERGAMIA*, DALL'ALTRO GETTERÀ LE BASI PER UN LORO USO QUALI INTEGRATORI FUNZIONALI A BENEFICIO DELLA SALUTE UMANA IN CONDIZIONI DI MICROGRAVITÀ.



Grazie per l'attenzione