

Sintesi – Giulio Verna

Le cellule dendritiche (DCs) sono regolatori chiave del sistema immunitario che pattugliano tutti i compartimenti del corpo. Quando esposte a segnali di pericolo, le DCs maturano, migrano verso i linfonodi drenanti e attivano la risposta immunitaria adattativa. Esistono differenze significative tra DCs immature (iDCs) e DCs mature (mDCs), le prime proteggono la periferia dell'ospite e supportano l'omeostasi e le seconde presentano antigeni e supportano l'infiammazione. I batteri sono tra gli stimoli maturativi più comuni che causano il passaggio da iDCs a mDCs.

Le DCs possono anche essere suddivise per lignaggio in cellule dendritiche mieloidi (mDCs) e cellule dendritiche plasmacitoidi (pDCs). Sono entrambi presenti nei tessuti della mucosa e regolano la risposta immunitaria secernendo chemochine e citochine.

Diversi elementi chiave svolgono un ruolo importante in questo processo, tra questi, il ferro intracellulare è un giocatore poco studiato necessario per avviare e sostenere la loro risposta infiammatoria. È stato recentemente dimostrato che l'esposizione delle DCs a chelanti del ferro di derivazione naturale riduce il pool di ferro intracellulare e, di conseguenza, previene la secrezione di citochine infiammatorie e capacità di presentazione dell'antigene da parte delle DCs.

Il contenuto di ferro nel corpo è finemente regolato, ma diverse patologie, oltre alla dieta, possono influenzarne il livello. Poco si sa sugli effetti della maturazione delle DCs in condizioni di sovraccarico di ferro o in condizioni di carenza di ferro. Lo scopo del lavoro di dottorato sarà lo studio delle vie metaboliche che caratterizzano le DCs in condizioni di riposo e attive e identificare i potenziali effetti protettivi dei biochelanti di origine nutrizionale in un modello murino di infiammazione intestinale cronica.

Questo lavoro di ricerca può essere suddiviso in tre fasi: la prima è consistita nello studio del ruolo del ferro nel processo maturativo delle DCs, la seconda ha analizzato il profilo metabolomico delle DCs attive e inattive mentre la terza ha previsto l'utilizzo di un modello murino di colite cronica per studiare gli effetti dei polifenoli *in vivo*.

I risultati descrivono chiaramente il ruolo del ferro nel processo di maturazione delle DCs poiché le cellule coltivate in un mezzo di coltura arricchito di ferro per dieci giorni non sono riuscite a differenziarsi nelle DCs convenzionali CD11c⁺MHCII^{hi} e a rispondere a LPS. Fenotipicamente, queste cellule apparivano più piccole delle DCs di controllo ma vitali e in grado di eseguire l'endocitosi FITC-destrano.

L'attivazione delle DCs è legata ai cambiamenti metabolici che sono essenziali per supportare la loro attività e funzione. Quindi, il targeting del metabolismo delle DCs rappresenta un'opportunità per modificare la risposta infiammatoria e immunitaria. Utilizzando la metabolomica non mirata, è stato possibile valutare la modulazione del metabolismo delle mDCs dopo la stimolazione con LPS e

valutare gli effetti dei polifenoli. Sia la frazione C derivata da *Humulus lupulus* che la quercetina hanno ridotto la produzione di diverse citochine infiammatorie, ma a differenza della quercetina, il meccanismo della frazione C era indipendente dal ferro extracellulare e mostrava una diversa via metabolica.

L'ultima parte del lavoro ha studiato gli effetti degli antociani derivati dalle pannocchie di mais viola *B1 P11* attraverso l'estrazione di etanolo su un modello murino di colite cronica: il SAMP1/YitFc. Questi topi sviluppano ileite spontanea che ricorda la malattia di Crohn umana con un tipico pattern discontinuo. Dopo 70 giorni di intervento sugli antociani, abbiamo osservato cambiamenti positivi nel punteggio istologico e nelle popolazioni microbiche.

Abstract – Giulio Verna

Dendritic cells (DCs) are key regulators of the immune system that patrol all the compartments of the body. When exposed to danger signals, DCs mature, migrate to the draining lymph nodes, and activate the adaptive immune response. Significant differences exist between immature DCs (iDCs) and mature DCs (mDCs), the first guard the host periphery and support homeostasis, and the second present antigens and support inflammation. Bacteria are among the most common maturational stimuli that cause the switch from iDCs to mDCs.

DCs can also be divided by lineage into myeloid dendritic cells (mDCs) and plasmacytoid dendritic cells (pDCs). They are both present in mucosal tissues and regulate the immune response by secreting chemokines and cytokines.

Several key elements play an important role in this process, among those, intracellular iron is an underinvestigated player required to initiate and sustain their inflammatory response. It has been recently demonstrated that the exposure of DCs to naturally derived iron chelators reduce the intracellular iron pool and, consequently, prevents DCs' secretion of inflammatory cytokines and antigen-presenting abilities.

Iron content in the body is finely regulated, but several pathologies, as well as diet, may affect its level. Little is known about the effects of DCs maturation in iron overload conditions or iron-deprived conditions. The aim of the PhD work will be the investigation of the metabolic pathways characterizing DCs in resting and active conditions and identify the potential protective effects of nutritional-derived biochelators in a murine model of chronic intestinal inflammation.

This research work can be divided into three phases: the first consisted of the study of the role of iron in the maturational process of DCs, the second analyzed the metabolomic profile of active and inactivated DCs while the third involved the use of a mouse model of chronic colitis to study the effects of polyphenols *in vivo*.

The results clearly describe the role of iron in the maturational process of DCs as cells cultured in an iron-enriched culture medium for ten days failed to differentiate into conventional CD11c⁺MHCII^{hi} DCs and respond to LPS. Phenotypically, these cells appeared smaller than control DCs but vital and able to perform FITC-dextran endocytosis.

DCs activation is linked to metabolic changes that are essential to support their activity and function. Hence, targeting DCs metabolism represents an opportunity to modify the inflammatory and immune response. Using untargeted metabolomics, it was possible to evaluate the modulation of mDCs metabolism after stimulation with LPS and assess polyphenol effects. Both fraction C derived from *Humulus lupulus* and quercetin reduced the production of several inflammatory cytokines, but differently from quercetin, the fraction C mechanism was independent of extracellular iron and showed a different metabolic pathway.

The last part of the work studied the effects of anthocyanins derived from *B1 P11* purple corn cobs through ethanol extraction on a mouse model of chronic colitis: the SAMP1/YitFc. These mice develop spontaneous ileitis that resembles human Crohn's disease with a typical discontinuous pattern. After 70 days of anthocyanin intervention, we observed positive changes in the histology score and microbial populations.