

Effetti di una formulazione probiotica multi-ceppo ad alta concentrazione sui processi di guarigione delle ferite e fibrosi cutanea: studio sperimentale su modelli in vitro

Francesca Lombardi - Francesca Rosaria Augello - Serena Artone - Paola Palumbo - Maria Grazia Cifone - Skender Topi - Benedetta Cinque - Maurizio Giuliani

L'uso topico dei probiotici nel processo di riparazione delle ferite è stato riportato da diversi studi, ma i meccanismi alla base degli effetti osservati non sono ancora chiariti. Il nostro gruppo ha recentemente studiato l'influenza della frazione solubile di lisati di diversi ceppi probiotici sul wound healing in vitro [1]. I risultati indicano che *S. thermophilus*, *L. plantarum* e *L. acidophilus* erano in grado di promuovere la riepitelizzazione di cheratinociti umani dopo lesione indotta artificialmente. Abbiamo riportato evidenze sul coinvolgimento della via della nitrossido sintasi 2 (NOS2) nella capacità dei probiotici in grado influenzare la riparazione dello strato epiteliale in vitro.

Nel presente lavoro, utilizzando lo stesso modello in vitro, abbiamo analizzato gli effetti della frazione solubile di un probiotico multi-ceppo contenente un'elevata concentrazione di lattobacilli, bifidobatteri e *S. thermophilus*. Considerando il ruolo svolto dall'ipossia, uno dei fattori cruciali nella lesione tissutale e nella guarigione delle ferite, abbiamo valutato l'effetto del trattamento sulla riparazione anche in condizioni ipossiche. Il nostro interesse si è anche concentrato sullo studio degli effetti del trattamento sulla fibrosi, il processo coinvolto nella riparazione tissutale anomala, con conseguente mio-differenziamento dei fibroblasti e deposito di abnormi quantità di collagene. È stato esplorato il potenziale impatto anti-fibrotico della formulazione probiotica su fibroblasti dermici umani (CC-2511) attivati da transforming growth factor(TGF)- β 1 sia in normossia che ipossia. I livelli di fattore indotto da ipossia(HIF)-1 α , collagene I, α -SMA e pSmad2/3 sono stati determinati mediante western blot. ELISA è stato utilizzato per i livelli di TGF- β 1. È stata valutata anche la capacità del probiotico di contrastare la transizione epitelio-mesenchimale di HaCat indotta da TGF- β 1. I risultati forniscono un utile contributo alla conoscenza dei meccanismi molecolari alla base degli effetti benefici di ceppi selezionati di probiotici nel migliorare il processo di guarigione delle ferite e contrastare la fibrosi cutanea.

Effects of a high concentration multi-strain probiotic formulation on wound healing and skin fibrosis: Experimental study on in vitro models.

The topical use of probiotics in the improvement of skin wound repair has been reported by several studies, but the mechanisms underlying the observed effects are not yet fully clarified. Our group has recently reported the influence exerted by the soluble fractions from lysates of different probiotic strains on the in vitro wound healing model [1]. The results suggested that *S. thermophilus*, *L. plantarum*, and *L. acidophilus* promoted the re-epithelialization of scratched human keratinocyte monolayers. We also showed evidence of the involvement of the nitric oxide synthase 2 (NOS2) pathway in their ability of probiotics to affect wound repair.

In the present work, using the same wound healing in vitro model, we analyzed the effects of the soluble fraction of a multi-strain probiotic formulation containing a high concentration of lactobacilli, bifidobacteria, and *S. thermophilus*. Considering the role played by hypoxia, one of the prominent factors in tissue injury and wound healing, the effect of probiotic treatment on scratched monolayer repair in hypoxic conditions was also assessed. Our interest was also focused on the effect of probiotic on fibrosis, the abnormal wound-healing process where the repair of injured tissue is deregulated, causing myofibroblasts to deposit excessive amounts of collagen. We explored the potential anti-fibrotic impact of the tested probiotic formulation on transforming growth factor-(TGF)- β 1-activated human normal human adult dermal fibroblasts (CC-2511), either in normoxia or hypoxia conditions. Hypoxia-induced factor (HIF)-1 α , collagen I, α -SMA, and pSmad2/3 levels have been evaluated by western blot. ELISA was used to assay TGF- β 1 levels. Probiotic ability to counteract EMT (epithelial-mesenchymal transition) of human HaCat induced by TGF- β 1 was also assessed. The results provide a useful contribution to the knowledge of the molecular mechanisms underlying the beneficial effects of selected strains of probiotics in improving the wound healing process and counteracting skin fibrosis.

1. Lombardi F, Palumbo P, Mattei A, Augello FR, Cifone MG, Giuliani M, Cinque B. Soluble Fraction from Lysates of Selected Probiotic Strains Differently Influences Re-Epithelialization of HaCaT Scratched Monolayer Through a Mechanism Involving Nitric Oxide Synthase 2. *Biomolecules*. 2019; 9(12):756. <https://doi.org/10.3390/biom9120756>