

**11.Ottobre**

## **Le conseguenze dell'invecchiamento delle cellule beta pancreatiche**

*L'invecchiamento è il progressivo restringimento del possibile.*

Vittorio Deriu

L'invecchiamento è legato al deterioramento funzionale di proteine, organelli, cellule e tessuti, che provoca *malattie neurodegenerative, cardiovascolari e metaboliche* .

Ad esempio, il **diabete di tipo 2 (T2D)** è una malattia metabolica causata dal declino funzionale e/o dalla perdita di segnale periferico dell'insulina, in definitiva derivante dall'incapacità delle **cellule beta pancreatiche** di secernere abbastanza insulina per mantenere l'omeostasi del glucosio

La secrezione di *insulina* è controllata dall'aumento dei livelli di glucosio e da fattori rilasciati dalle cellule *alfa secernenti glucagone* insulare, dalle cellule *delta secernenti somatostatina* insulare, dal *sistema nervoso autonomo* e dal sistema vascolare

Le **cellule beta** delle isole sono straordinariamente longeve e molte rimangono postmitotiche per tutta la loro vita. Di conseguenza, queste cellule mantengono normalmente la loro integrità funzionale per molti decenni. Tuttavia, l'invecchiamento delle cellule beta è associato a una maggiore incidenza di T2D e ridotta attività delle cellule beta

Le **cellule beta** più vecchie hanno diversi fenotipi unici, inclusi tassi di proliferazione ridotti, aumento del rumore trascrizionale, elevato accumulo di goccioline lipidiche, senescenza, stati distinti della cromatina e alterata omeostasi intracellulare del calcio

Di conseguenza, ci si aspetta che questi fenotipi minino la funzione delle cellule beta per compromettere la secrezione di insulina .

Pertanto, è necessaria una migliore comprensione dei *meccanismi molecolari sottostanti* che regolano la funzione della struttura delle **cellule beta** nell'arco della vita umana per capire meglio come l'invecchiamento influisce sulle **cellule beta** e contribuisce all'insorgenza del T2D nella vecchiaia.

Le isole sono composte da diverse popolazioni di cellule beta funzionalmente e trascrizionalmente discrete, che possono secernere insulina in risposta alla stimolazione del glucosio in modo diverso e la cui composizione relativa è influenzata dal T2D .

Tale eterogeneità cellulare, guidata da *stati trascrizionali distinti*, si propone di coinvolgere livelli di espressione variabili di *geni marcatori* delle cellule beta come **INS** , proteina legante il **retinolo 4** o la risposta allo **stress cellulare**

Ad esempio la **proinsulina** è una proteina soggetta a ripiegamento errato, rendendo la sua biosintesi nel reticolo endoplasmatico (ER) un evento stressante. Le **cellule beta pancreatiche** superano lo stress ER attivando la **risposta proteica (UPR Unfolded Protein Response)** e riducendo la produzione di insulina. Ciò suggerisce che le cellule  $\beta$  transitano tra periodi di elevata biosintesi dell'insulina e recupero mediato dall'UPR dallo stress cellulare.

I ricercatori della **Regeneron Pharmaceuticals, (Tarrytown, NY)** hanno ricostruito questa dinamica identificando gli stati principali con

1 ) **UPR** basso e espressione genica di insulina bassa

- 2 ) **UPR** basso e espressione genica di insulina alta
- 3) alta **UPR** e bassa espressione genica dell'insulina.

Quest'ultimo stato è stato arricchito per la proliferazione delle cellule.

Le **cellule  $\beta$  umane stressate** non si differenziano e mostrano poca propensione all'apoptosi.

Questi dati suggeriscono che le **cellule  $\beta$**  umane passano da stati con alti tassi di biosintesi per soddisfare il fabbisogno di insulina del corpo per mantenere normali livelli di glucosio nel sangue e recupero mediato **dall'UPR** dallo stress ER a causa dell'elevata produzione di insulina.

*Xin Y et al. Pseudotime Ordering of Single Human  $\beta$ -Cells Reveals States of Insulin Production and Unfolded Protein Response. Diabetes. 2018 Sep;67(9):1783-1794.*

I **test a nucleo singolo** per la cromatina accessibile alla **trasposasi** utilizzando il sequenziamento (**snATAC-seq**) consentono di identificare e sezionare i meccanismi specifici del tipo cellulare nell'ambito di malattie complesse .

Il team di **Joshua Chiou**



Del **Biomedical Graduate Studies Program, University of California, San Diego**, Ha profilato **15.298** cellule insulari utilizzando il codice a barre combinatorio **snATAC-seq** e identificato **12 cluster**, inclusi più stati cellulari alfa, beta e delta.

In questo modo sono stati catalogati **228.873 siti di cromatina accessibili** e identificati fattori di trascrizione alla base della regolamentazione specifica del lignaggio e dello stato.

E' stato analizzato l'arricchimento specifico dello stato del glucosio a digiuno e gli studi di associazione dell'intero **genoma T2D** per le **cellule beta** e l'arricchimento per altri tipi di cellule endocrine dimostrando il potere dell'epigenomica unicellulare per interpretare la genetica di malattie complesse.

*Chiou J et al Single-cell chromatin accessibility identifies pancreatic islet cell type- and state-specific regulatory programs of diabetes risk. Nat Genet. 2021 Apr;53(4):455-466.*

Anche se la funzione alterata delle cellule delle **isole pancreatiche** è una delle principali cause di disregolazione metabolica e malattia negli esseri umani. Nonostante ciò, resta difficile collegare direttamente la disfunzione fisiologica nelle cellule delle isole a precisi cambiamenti nell'espressione genica.

**Joan Camunas-Soler**



del *Department of Bioengineering, Stanford University, Stanford*, ha dimostrato come il sequenziamento dell'RNA unicellulare combinato con misurazioni elettrofisiologiche dell'esocitosi e dell'attività del canale (patch-seq) può essere utilizzato per collegare la fisiologia endocrina e i trascrittomi a livello unicellulare.

Attraverso **1.369** cellule patch-seq dal pancreas di *34 donatori umani* con e senza diabete attraverso un'analisi della funzione e delle reti di espressione genica ha identificato *un set genico associato all'eterogeneità funzionale nelle cellule  $\beta$*  che può essere utilizzato per prevedere l'elettrofisiologia.

Pochi giorni fa (7 ottobre) il team di **Shristi Shrestha**



del *Vanderbilt Center for Stem Cell Biology (Nashville)* ha pubblicato su *Science Advances* un report che combina la *trascrittomica unicellulare, la microscopia confocale dei tessuti ad alta risoluzione e le analisi funzionali* per rivelare la dinamica del processo di invecchiamento delle cellule beta.

In particolare è stata eseguita la meta-analisi dei set di dati di sequenziamento *dell'RNA unicellulare*, l'analisi del *regulone del fattore di trascrizione (TF)*, la microscopia confocale ad alta risoluzione e la secrezione di insulina misurata da donatori non diabetici che coprono la maggior parte della vita umana intervallo.

Ciò ha rivelato la gamma di *cambiamenti molecolari e funzionali* che si verificano durante l'invecchiamento delle *cellule beta*, inclusa la *deregolazione trascrizionale* che si associa all'immaturità cellulare e alla riorganizzazione delle reti TF delle cellule beta, all'aumento dei tassi di trascrizione genica e al ridotto rilascio di insulina stimolato dal glucosio.

Queste alterazioni si associano all'attivazione dello stress del reticolo endoplasmatico (ER) e delle vie autofagiche.

Le **cellule beta** invecchiate mostrano: un aumento della produzione trascrizionale e dei carichi di traduzione delle proteine, sovraregolazione della risposta allo stress del reticolo endoplasmatico (ER) e autofagia, che si associa all'espressione compromessa dei marcatori delle cellule beta chiave e alla funzione secretoria.

Inoltre, è stata ridisegnata l'architettura delle reti di **regolazione genica (GRN)** formate da **fattori di trascrizione delle cellule beta umane (TF)** e dimostrato che i **GRN** necessari per una corretta risposta allo stress sono **sottoregolati** nelle cellule beta che invecchiano.

*Shrestha S et al. Aging compromises human islet beta cell function and identity by decreasing transcription factor activity and inducing ER stress. Sci Adv. 2022 Oct 7;8(40):eabo3932.*

#### # Considerazioni e riflessioni da una lettura approfondita del report

Le **cellule beta** sono per lo più cellule postmitotiche che possono persistere per tutta la vita dell'organismo

Di conseguenza la riorganizzazione della composizione **TF** delle cellule beta e delle firme **GRN** nelle vecchie cellule beta si associa a una maggiore trascrizione genica, sovraregolazione delle vie di sintesi proteica, stress ER, alterata autofagia e accumulo di prodotti di digestione lisosomiale e ridotta secrezione di insulina in vitro.

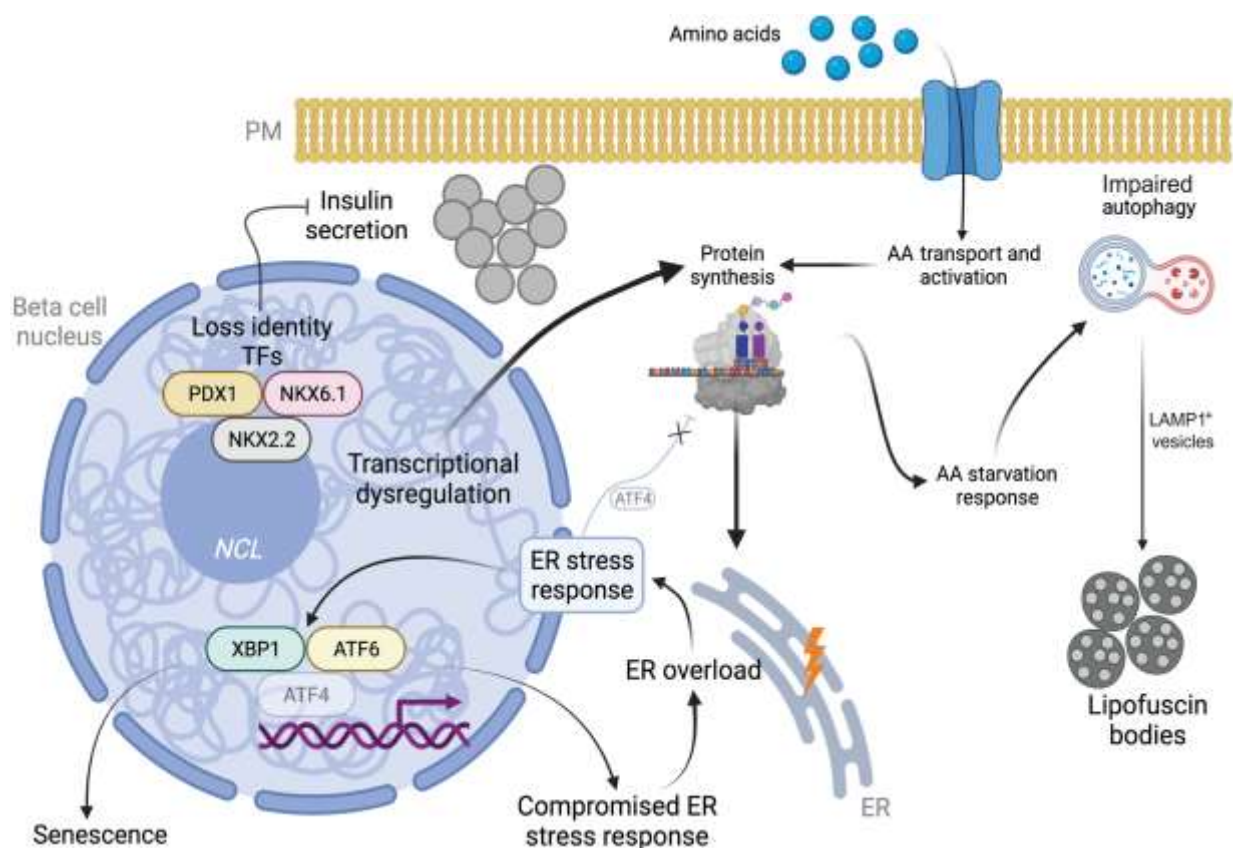
Questi risultati sono in sintonia con studi precedenti che dimostrano che le **cellule beta** che invecchiano accumulano corpi di **lipofuscina** e sono soggette ad aumento della **fibrosi e infiammazione** delle isole, **senescenza rumore trascrizionale** più elevato e una dinamica del calcio intracellulare alterata.

Il **team di di Nashville** propone che l'invecchiamento causi un **riarrangiamento dei GRN** che guida un aumento della produzione trascrizionale e del rumore delle cellule beta

Ciò comporta la formazione di **fenotipi di immaturità trascrizionale e funzionale**, mediati in parte dalla perdita di PDX1/NKX6.1/NKX2.2, e determina tassi più elevati di sintesi proteica che sovraccaricano il meccanismo di ripiegamento delle proteine ER per innescare (e/o contribuire) allo stress ER

Di conseguenza, le vecchie **cellule beta** regolano il trasporto e il metabolismo degli aminoacidi per soddisfare le richieste di aminoacidi più elevate per sostenere le richieste metaboliche del meccanismo di sintesi proteica. Tuttavia, l'attivazione di diversi geni di risposta alla **"fame di aminoacidi"** suggerisce che questa risposta adattativa non riesce a soddisfare le richieste di aminoacidi della cellula.

Ciò spiegherebbe **l'up-regulation** dell'autofagia possibilmente tramite **down-regulation** della segnalazione di mTOR. L'accumulo significativo di **LAMP1 +vescicole** e perdita di colocalizzazione con **LC3A/B** suggeriscono che l'autofagia è compromessa e provoca l'accumulo di **corpi lipofuscini**.



### In sintesi :

L'up-regulation dell'output trascrizionale delle cellule beta aumenta la traduzione delle proteine e le richieste di ripiegamento. Per soddisfare questa maggiore domanda, le cellule beta aumentano il trasporto e il metabolismo degli aminoacidi.

Questo è anche associato all'attivazione della risposta alla fame di aminoacidi che stimola l'autofagia. Questo processo è compromesso e porta all'accumulo di corpi di lipofuscina.

Una maggiore sintesi proteica sovraccarica l'ER e innesca percorsi di risposta allo stress ER, che sono compromessi.

Ciò probabilmente contribuisce all'attivazione di altri percorsi dipendenti dall'invecchiamento delle cellule beta, inclusa la senescenza. Il fenotipo di stress ER non risolto, combinato con l'espressione compromessa dei TF di identità, crea uno stato di stress ER cronico che mina la funzione della struttura delle cellule beta che potrebbe portare al fallimento secretorio e/o alla morte.

### Un anno fa... Baedeker/Replay del 11 ottobre

*Lo sapevo...solo il 25 % dei vaccini promessi e stanziati verrà donato ai paesi poveri*

In un momento in cui i piani di più nazioni ricche per lanciare la "terza dose" colpi di richiamo stanno nuovamente evidenziando le disuguaglianze globali nell'accesso ai vaccini COVID-19, l'attesa si è allungata per i paesi più poveri del mondo. Il COVID-19 Vaccines Global Access Facility (COVAX), il principale fornitore di vaccini COVID-19 ai paesi a basso reddito, la scorsa settimana ha ridimensionato le sue previsioni sulle dosi disponibili per quest'anno di circa il 25%, da 1,8 miliardi a 1,4 miliardi di dosi. Le cause: una serie complessa di fattori, tra cui ritardi normativi, problemi di produzione e il rifiuto dell'India, il più grande fornitore mondiale di vaccini, di consentire le esportazioni, ha rallentato l'aumento promesso delle

forniture di vaccini. COVAX, istituita dall'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) e dai suoi partner per fornire "accesso equo" alle vaccinazioni ai 92 paesi del mondo a reddito medio e basso, aveva spedito solo 255 milioni di dosi di vaccino al 13 settembre. Aveva contato su altri 230 milioni provenienti quest'anno dal Serum Institute of India, che è incaricato di fornire il vaccino sviluppato dalla collaborazione tra AstraZeneca e l'Università di Oxford e quello prodotto da Novavax.

Ma a causa dell'aumento dei casi nel paese questa primavera ( vedi BAEDEKER) , il governo indiano ha costretto l'azienda a interrompere l'esportazione del prodotto; ad oggi non è chiaro quando saranno revocate le restrizioni all'esportazione. Novavax aveva anche promesso altri 100 milioni di dosi del suo vaccino a subunità proteica da impianti di produzione al di fuori dell'India, ma questo vaccino non ha ancora ricevuto l'autorizzazione dall'OMS o da alcun paese. Il resto del deficit è attribuito alle dosi mancanti di Johnson & Johnson, il cui principale stabilimento (statunitense) ha avuto e continua ad avere problemi di produzione; la società cinese Clover Biopharmaceuticals, che non dispone ancora di dati sull'efficacia per il suo vaccino. I ritardi gettano ulteriori dubbi sugli obiettivi di vaccinazione dell'OMS. Ha esortato tutti i paesi a vaccinare completamente il 10% della loro popolazione entro la fine di settembre e il 40% entro la fine dell'anno.

Sebbene il 90% dei paesi ad alto reddito abbia raggiunto il primo obiettivo e il 70% abbia raggiunto il secondo, solo l'1,9% delle persone nei paesi a basso reddito ha ricevuto una singola dose. COVAX ha impegni per 4,5 miliardi di dosi, sufficienti per raggiungere gli obiettivi globali, ma i produttori di vaccini hanno preferito stabilire accordi commerciali con paesi ricchi, paesi che non sono disposti a rinunciare momentaneamente alle proprie riserve di vaccini pur di assicurarsi riserve strategiche per una eventuale riaccensione pandemica (l'incognita delle varianti)

L'India sta prendendo la stessa posizione. L'impennata del Paese è diminuita e ha somministrato più di 700 milioni di dosi, ma solo il 12% della sua popolazione è completamente vaccinato. L'aumento delle donazioni a COVAX potrebbe colmare parte del vuoto. Gli Stati Uniti hanno donato 140 milioni di dosi ed ha promesso di fornire ulteriori 200 milioni di dosi entro la fine dell'anno e altri 300 milioni entro la metà del 2022. Il direttore generale dell'OMS Tedros Adhanom Ghebreyesus ha esortato i produttori e i paesi ricchi ad aiutare almeno ogni paese a immunizzare i suoi gruppi più vulnerabili e gli operatori sanitari. "Non rimarrò in silenzio quando le aziende e i paesi che controllano la fornitura globale di vaccini pensano che i poveri del mondo dovrebbero accontentarsi degli avanzati", ha detto in una conferenza stampa l'8 settembre in cui ha chiesto una "moratoria globale" sulla terza dose. Il 17 settembre Anthony Fauci, che fa parte del team di risposta COVID-19 della Casa Bianca, ha indicato che i dati provenienti da Israele mostrano come la "terza dose" del vaccino Pfizer nelle persone di età superiore ai 60 anni ha ridotto le infezioni e le malattie gravi di oltre dieci volte. Ma sono molti i ricercatori sostengono che...

**(per continuare vai all'originale)**