

15. Novembre

Mucoadhesive probiotic "backpacks" with ROS nanoscavengers nella terapia delle malattie infiammatorie intestinali

Una buona digestione si avvicina ai misteri dell'infinito.
Gianni Brera

Le **specie reattive dell'ossigeno (ROS)**, sottoprodotti del metabolismo aerobico, sono molecole cruciali nei processi fisiologici.

Although the electron transport chain gives us a way to generate high ATP molecules, it does produce harmful by-products that can damage the cell.

$O_2 \xrightarrow{e^-} O_2^{\cdot -} \xrightarrow{e^-} O_2^{2-}$

oxygen superoxide anion peroxide

In complex II, when a total of four electrons are transferred to oxygen, we form two water molecules that are harmless to the cell.

$O_2 + 4e^- + 4H^+ \xrightarrow{\text{complex IV}} 2 H_2O$

However, if the oxygen only gains one or two electrons, this can lead to the formation of molecules such as superoxide and hydrogen peroxide that can be dangerous to the cells. These and other derivatives are called **reactive oxygen species (ROS)**.

If not controlled, ROS can react with cell components and cause oxidative damage. Medical conditions such as ischemia, diabetes, ceroid lipofuscinosis, alcoholism, emphysema and many others have been linked to oxidative damage.

Our cells regulate ROS in one of two major ways:

- Complex IV holds the oxygen and its derivatives very tightly and only releases it upon the conversion into safe molecules.
- For the few ROS that are released, cells use protective enzymes that locate and convert ROS into safe products.

Superoxide Dismutase

This enzyme locates and converts superoxide radical species:

$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

There are two forms of this enzyme:

- zinc-copper containing superoxide dismutase (located in mitochondria)
- manganese-containing superoxide dismutase (located in cytoplasm)

$O_2^{\cdot -} \xrightarrow{\text{reduced dismutase}} O_2$

$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{oxidized dismutase}} H_2O + O_2$

and converts hydrogen peroxide species:

$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2 H_2O + O_2$

so hydrogen peroxide is converted to form water and O_2 .

amount of protective enzymes found in our cells, cells ability to find and remove reactive

Tuttavia, la loro sovrapproduzione causa **stress ossidativo**, che amplifica le risposte infiammatorie **e aggrava i disturbi infiammatori**, specialmente nel tratto gastrointestinale (GI), provocando danni allo **strato mucoso intestinale** e invasione di patogeni, stimolando successivamente le risposte immunitarie e portando infine allo sviluppo **di malattie infiammatorie intestinali (IBD)**



Arno Bourgonje del *Department of Gastroenterology and Hepatology, dell'Università di Groningen*



ha dimostrato che **l'eccessivo stress ossidativo** indotto da ROS nell'intestino sia un fattore

determinante nella **patogenesi e nella progressione delle IBD**. In particolare lo **stress ossidativo** è causato dallo squilibrio nella generazione di specie reattive e dalla capacità di difesa antiossidante dell'ospite

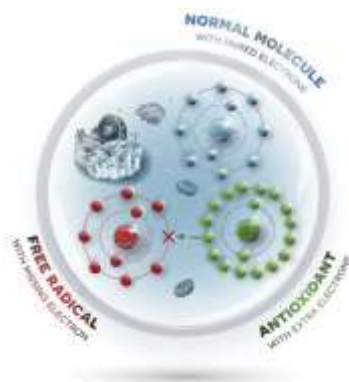
Un eccesso di ROS può causare danni alle cellule endoteliali intestinali inducendo **perossidazione lipidica, mutazioni del DNA** non riparabili agevolmente attraverso i meccanismi automatici di repair, con alterazioni della struttura e delle funzioni di proteine “chiave”, modificando la permeabilità epiteliale e neutralizzando la protezione delle **barriere epiteliali intestinali**, portando inevitabilmente all'inizio o al deterioramento delle **IBD**

Bourgonje AR et al [Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease](#). Trends Mol Med. 2020 Nov;26(11):1034-1046

Gli studi del **Department of Biomedical Engineering della Nanjing University (Jiangsu,China.)** hanno dimostrato brillantemente che un incremento di ROS può anche attivare reazioni proinfiammatorie disregolate che alterano profondamente il funzionamento della rete immunitaria difensiva intestinale.

Liu Y, et al [Integrated cascade nanozyme catalyzes in vivo ROS scavenging for anti-inflammatory therapy](#). Sci Adv. 2020 Jul 17;6(29):eabb2695.

Gli **antiossidanti** sono effettori molecolari capaci di eliminare/ neutralizzare i ROS nell'intestino e sono una arma preziosa nel trattamento delle **IBD**.



Tuttavia, a causa della loro rapida eliminazione, di una loro distribuzione non specifica la capacità di **scavenging** dei ROS è relativamente inefficiente. Gli antiossidanti dimostrano un'efficacia incoerente nel trattamento delle malattie infiammatorie. Inoltre, i profili di distribuzione stocastica nei tessuti normali possono causare una varietà di effetti avversi indesiderati

Liu Y, et al [Integrated cascade nanozyme catalyzes in vivo ROS scavenging for anti-inflammatory therapy](#). Sci Adv. 2020 Jul 17;6(29):eabb2695.

Il team del **State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes di Shanghai** ha dimostrato che in un individuo sano, il **microbiota** fornisce all'ospite **acidi grassi a catena corta** e **vitamine essenziali**, proteggendolo allo stesso tempo dalla colonizzazione e dall'invasione di agenti patogeni. Al contrario, un **microbiota alterato** nella sua composizione standard induce uno stato infiammatorio cronico, aumenta la produzione di sostanze tossiche ed interferisce con il metabolismo dell'ospite

Lin S et al [Mucosal immunity-mediated modulation of the gut microbiome by oral delivery of probiotics into Peyer's patches](#). Sci Adv. 2021 May 12;7(20):eabf0677.

Nel 2021 Il team di **Liu** aveva dimostrato che i probiotici somministrati **per via orale** possono colonizzare i tessuti del colon e aiutare nel ripristino del normale microbiota intestinale nel

trattamento delle legate al tratto gastrointestinale. Sfortunatamente, questi probiotici sono altamente sensibili agli ambienti ostili presenti nell'apparato digerente che ne limitano l'efficacia ed il tempo di ritenzione nell'intestino, portando a una diminuzione dell'efficacia terapeutica

J. Liu, W. et al Biomaterials coating for on-demand bacteria delivery: Selective release, adhesion, and detachment. Nano Today 41, 101291 (2021).

Z. Li, Yet al Chemically and biologically engineered bacteria-based delivery systems for emerging diagnosis and advanced therapy. Adv. Mater. 33, 2102580 (2021).

Aron Anselmo del *David H. del Massachusetts Institute of Technology*,



nel 2016 ha realizzato un 'incapsulamento per proteggere i probiotici dagli insulti del tratto gastrointestinale e finalizzato a migliorare la loro adesione sulla mucosa intestinale 'intestino per aumentarne la persistenza e l'azione.

Anselmo AC et al. Encapsulation of Probiotics for Delivery to the Microbiome. Adv Mater. 2016 Nov;28(43):9486-9490.

Il team della **Pharmaceutical Sciences Division**, della **Facoltà di farmacia** dell'Università del **University of Wisconsin** diretto da **Liu J**



ha sintetizzato un polimero di acido ialuronico-poli (solfuro di propilene) (HA-PPS) e sviluppato nanoparticelle di scavenging ROS (HPN) in grado di svolgere una efficace azione scavenging ROS.

Per ottenere effetti mirati al tessuto del colon, le nanoparticelle HPN sono state coniugate alla superficie del probiotico modificato Escherichia coliNissle 1917 (EcN).

Per migliorare la *batterioterapia dell'EcN* l' *EcN* è stato incorporato con uno strato di *poli-norepinefrina (NE)* che può proteggere l'*EcN* dagli attacchi ambientali per migliorare la vitalità dell'*EcN* nella somministrazione orale e prolungare il tempo di ritenzione dell'*EcN* nell'intestino grazie alla sua forte *capacità mucoadesiva*.

Nei modelli di colite murina indotta da *sodio solfato destrano*, *HPN-NE-EcN* ha mostrato una notevole efficacia profilattica e terapeutica sostanzialmente migliorata. Inoltre, l'abbondanza e la diversità del microbiota intestinale sono aumentate dopo il trattamento con *HPN-NE-EcN* contribuendo ad alleviare l' *IBD*.

Liu J et al. Mucoadhesive probiotic backpacks with ROS nanoscavengers enhance the bacteriotherapy for inflammatory bowel diseases. Sci Adv. 2022 Nov 11;8(45):eabp8798

Alcune considerazioni:

L'*HA* è stato utilizzato non solo per costruire *HPN*, ma anche per migliorare il trattamento delle *IBD* modulando le risposte immunitarie, ad esempio attraverso la regolazione dei *macrofagi*, e contemporaneamente fungendo da potente agente antinfiammatorio.

Inoltre, l'*HA*, che è spesso presente nei fluidi sinoviali e nella matrice extracellulare, è biocompatibile e biodegradabile. L'*HA* è ampiamente utilizzato in applicazioni biomediche con un ottimo profilo di biosicurezza in vivo.

L'*HPN* di nuova generazione ha mostrato una migliore idrofilia e ha dimostrato effetti citoprotettivi pur mantenendo la robusta attività di *scavenging dei ROS* della *PPS*.

Il team di **Alessandro Napoli** del *Institute for Biomedical Engineering and Department of Materials, dell'Università di Zurigo* ha dimostrato che una volta consumati i ROS e ossidati gli atomi di zolfo a solfone, l'*HPN* si autodegrada a causa della trasformazione del *PPS* da uno stato idrofobico a uno idrofilo

Napoli A et al Oxidation-responsive polymeric vesicles. Nat Mater. 2004 Mar;3(3):183-9.

Questa trasformazione migliora la sicurezza dell'*HPN* e apre le porte a potenziali ulteriori applicazioni cliniche.

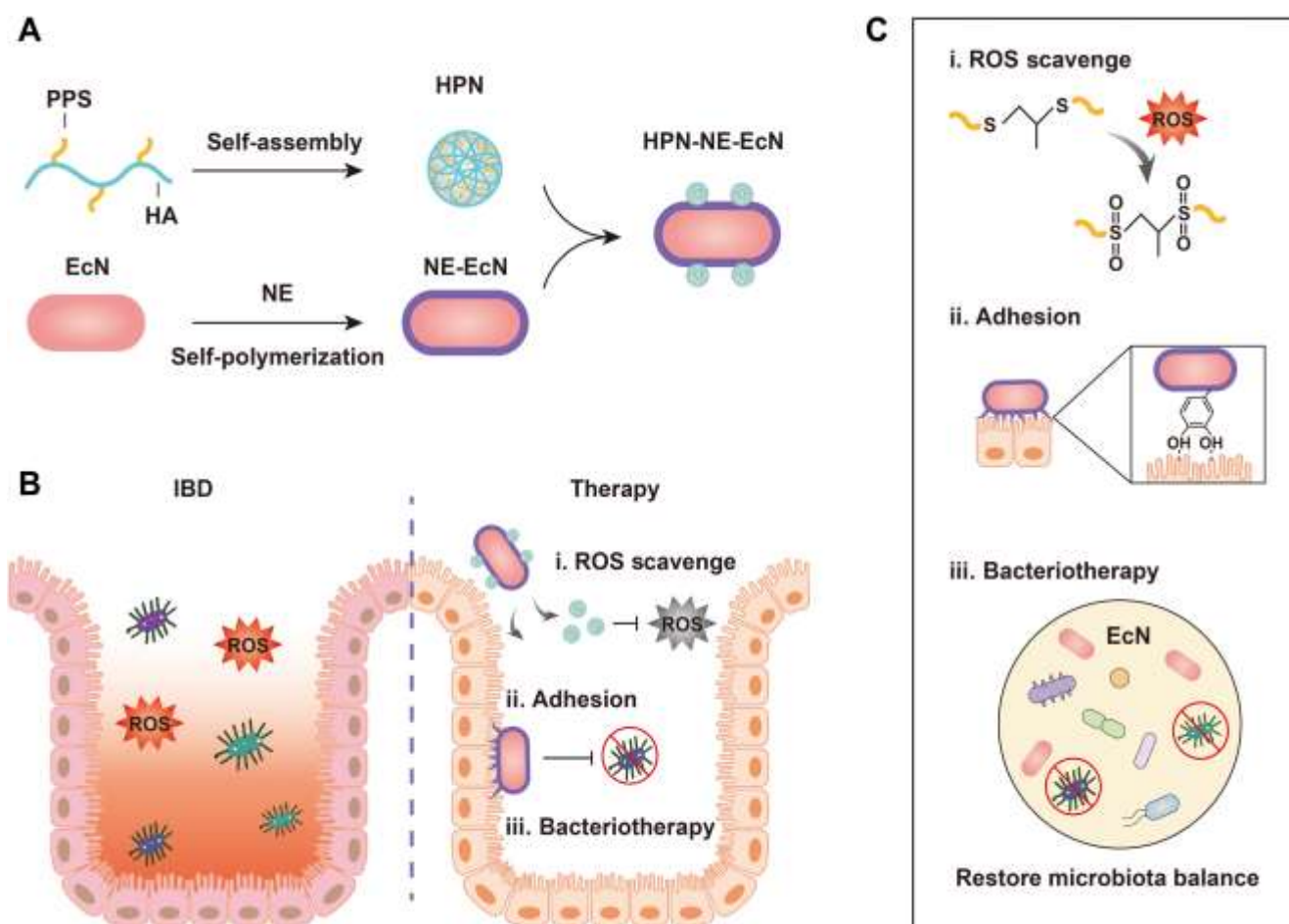
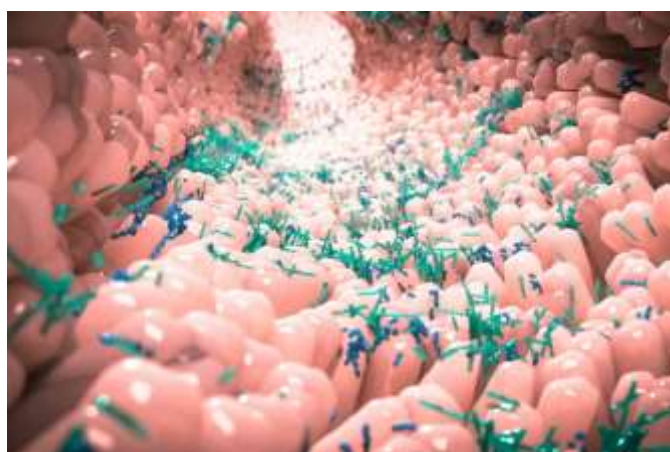


Illustrazione schematica della preparazione di HPN-NE-EcN e del suo meccanismo per il trattamento delle IBD.

(**A**) Preparazione di HPN mediante autoassemblaggio della molecola HA-PPS, incapsulamento di *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) con lo strato di noradrenalina (NE) e coniugazione di HPN alla superficie di EcN. (**B e C**) L'HPN-NE-EcN preparato esercita un'attività di scavenging dei ROS ossidando gli atomi di zolfo in PPS per formare solfossidi e quindi ossidandosi ulteriormente per formare solfoni (i). Inoltre, lo strato NE, che imita le proteine del piede adesive delle cozze, conferisce a EcN una forte capacità mucoadesiva e prolunga il tempo di ritenzione di EcN nell'intestino (ii), consentendo una migliore batterioterapia ripristinando l'omeostasi del microbioma intestinale (iii).



Un anno fa... Baedeker/Replay del 15 Novembre

COVID lungo: il problema della fibrosi polmonare irreversibile.

Premessa L'ARDS si sviluppa in più fasi. All'inizio con la raccolta di liquidi in eccesso e successivamente con un accumulo di cellule infiammatorie nel polmone. A questa fase essudativa fa seguito una fase fibroproliferativa, caratterizzata dall'accumulo di fibroblasti intra alveolari e da un'estesa deposizione/rimodellamento del collagene. La fase fibroproliferativa è associata a una maggiore mortalità; i meccanismi che mediano la risoluzione della fibroproliferazione rimangono in gran parte sconosciuti. Le cellule T regolatorie (T regs) contribuiscono a risolvere infiammazione polmonare, regolando la fibroproliferazione nei polmoni sensibili e riducono l'afflusso di fibroblasti diminuendo la CXCL12 polmonare, una chemochina che promuove il traffico di fibrociti nei polmoni.

Quando i pazienti entrano nell'ultimo stadio fibroproliferativo si instaura una fibrosi polmonare irreversibile, con gravi conseguenze cliniche per quei pochi sfortunati che devono convivere con le sequele fibrotiche di una ARDS. I sopravvissuti alla polmonite grave della malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) spesso mostrano sequele polmonari a lungo termine. I meccanismi sottostanti o i correlati immunitari locali e sistemici associati non sono noti. L'anziano fragile Il principale determinante degli esiti clinici negli individui con infezione da sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus 2 (SARS-CoV-2) è l'età : la maggior parte della morbilità e mortalità si verificano negli anziani . Al di là della morbilità acuta indotta da SARS-CoV-2 infezione, i dati attualmente disponibili, dimostrano che i pazienti con (COVID-19) acuto-grave sono a più alto rischio di sviluppare sequele polmonari croniche e persistenti con anomalie di imaging del torace (Mo X 2021, Wu X 2021)

Tuttavia, anche questi meccanismi che li determinano rimangono sfuggenti. Poiché il numero di pazienti con sintomi persistenti dopo la risoluzione della malattia acuta aumenta (COVID-19 cronico) la definizione dei meccanismi specifici attraverso i quali si sviluppa il danno polmonare cronico è essenziale per lo sviluppo di futuri interventi preventivi e/o terapeutici per i sintomi cronici di COVID-19. Le cellule T e B possono generare una memoria immunologica di lunga durata dopo la rimozione dell'infezione virale primaria che protegge l'ospite dalla reinfezione dello stesso virus o di quelli correlati. I linfociti memory sono cellule di memoria circolanti che pattugliano il corpo e cellule di memoria residenti nei tessuti che risiedono nel tessuto periferico non linfoide. In particolare le cellule T memory e B memory residenti nei tessuti che risiedono nel tratto respiratorio forniscono un'immunità immediata e superiore contro le reinfezioni virali. Le risposte disregolate delle cellule T residenti nei polmoni sono collegate alla infiammazione polmonare cronica, dopo infezione virale respiratoria, in particolare nei pazienti più anziani.

Lauren Rodda del Dipartimento di Immunologia, Facoltà di Medicina dell'Università di Washington ritiene che la memoria delle cellule B e T antigene-specifica si forma e può persistere nella circolazione per più di 6 mesi dopo l'infezione da SARS-CoV-2 (Rodda L 2021) Lo studio del team della Divisione di medicina polmonare e critica, Dipartimento di Medicina, Mayo Clinic, nel report Immune signatures underlying post-acute COVID-19 lung sequelae ha descritto e definito i profili immunitari circolanti e i parametri funzionali e patologici polmonari quantitativi in una coorte di anziani convalescenti COVID-19. I risultati suggeriscono che le risposte immunitarie polmonari disregolate, in particolare le risposte esuberanti di alcuni sottoinsiemi di cellule CD8 + T respiratorie , possono contribuire allo sviluppo di complicanze polmonari croniche dopo la risoluzione dell'infezione acuta da COVID-19 in individui anziani. Inoltre lo studio dimostra, elegantemente, che l'insufficienza polmonare cronica è accompagnata da persistenti alterazioni immunitarie respiratorie.

In particolare le cellule T e B della memoria specifiche del coronavirus 2 (SARS-CoV-2) della sindrome respiratoria acuta grave funzionale In quantità considerevoli nel sito di infezione rispetto a quelle del sangue. In particolare le CD8 + respiratorie disregolate sono correlate alla funzione polmonare compromessa dopo COVID-19 acuto. Attraverso l'analisi trascrittomico di una singola cellula sono stati identificati i potenziali sottoinsiemi patogeni di cellule CD8 + T respiratorie che contribuiscono a definire

condizioni tissutali persistenti dopo COVID-19. Esistono pertanto tratti fisiopatologici e immunitari che possono

(per continuare vai all'originale)