

8. Febbraio

## Il ruolo del TGF $\beta$ nella patogenesi della esofagite eosinofila

*Tranquilla nessuno è immune,  
siamo tutti lo sbaglio di qualcuno.*

Le malattie allergiche sono tra le condizioni mediche più pervasive che colpiscono gli esseri umani e la loro prevalenza sta aumentando a un ritmo marcato. I fattori che danno inizio all'*infiammazione allergica* e conferiscono la specificità tissutale caratteristica delle condizioni allergiche rimangono oscuri.

Come interfaccia con l'ambiente esterno, *le cellule epiteliali* sono le prime a incontrare gli allergeni e svolgono un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi immunitaria, ma i meccanismi e le vie coinvolte non sono completamente compresi.

È stato proposto che una *barriera epiteliale che perde* causi una malattia allergica consentendo la penetrazione di antigeni che poi istigano una risposta immunitaria infiammatoria. Oltre a fornire un impedimento fisico agli insulti esterni, le cellule epiteliali promuovono le risposte immunitarie locali e la riparazione dei tessuti che, se non controllate, possono indurre patologie.

**L'esofagite eosinofila (EoE)** è una malattia cronica caratterizzata da infiammazione eosinofila nell'esofago, che si manifesta tipicamente nei pazienti come disfagia e occlusione alimentare.

**EoE** condivide molte caratteristiche in comune con altri disturbi allergici, comprese le caratteristiche *dell'infiltrato cellulare infiammatorio*, la presenza di *iperplasia epiteliale* e l'induzione di *allarmine di origine epiteliale*, suggerendo una fisiopatologia condivisa. Sia i fattori ambientali che quelli genetici contribuiscono alla patogenesi dell'EoE. Tra le prime 10 varianti geniche legate a **EoE**.

**Benjamin Davis & Marc Rothenberg**



hanno dimostrato che quasi tutte si verificano in geni espressi dalle cellule epiteliali e circa un terzo codifica per proteine coinvolte nella trasformazione della segnalazione del **fattore di crescita- $\beta$  (TGF $\beta$ )**

Il team della **Food Allergy Research Section del Laboratory of Allergic Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases (Bethesda)** ha dimostrato nel 2016 che i pazienti con **sindrome di Loey-Dietz** che presentano **varianti** con perdita di funzione nei geni che codificano

per il recettore per **TGF $\beta$**  (**GFBR1** e **TGFBR2**) hanno maggiori probabilità di sviluppare malattie allergiche, tra cui **EoE**

*Frischmeyer-Guerrero PA et al TGF $\beta$  receptor mutations impose a strong predisposition for human allergic disease. Sci Transl Med. 2013 Jul 24;5(195):195ra94.*

Per studiare i meccanismi mediante i quali la ridotta segnalazione del **TGF $\beta$ R** promuove **l'infiammazione allergica** localizzata nell'**EoE**, ha utilizzato topi con la **variante Tgfbr1 M318R (R1)** colpita nel locus **Tgfbr1 endogeno**, una variante che esprime una mutazione puntiforme che risulta nell'espressione di **TGF $\beta$ R1** priva di attività chinasica

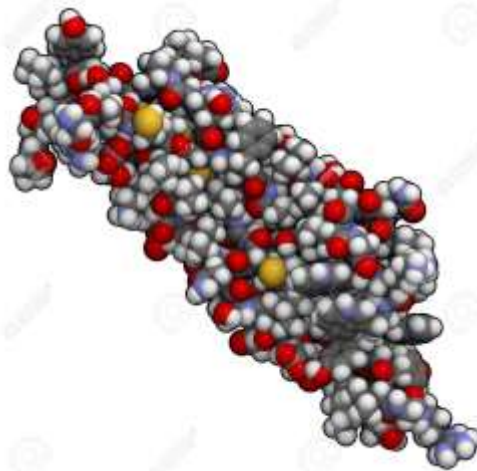
*Laky K et al. Epithelial-intrinsic defects in TGF $\beta$ R signaling drive local allergic inflammation manifesting as eosinophilic esophagitis. Sci Immunol. 2023 Jan 6;8(79):eabp9940.*

Il team ha dimostrato come i **topi R1** sviluppano spontaneamente **EoE** che ricapitola da vicino la malattia umana con una penetranza del 100% e dimostrano che un difetto primario nello sviluppo epiteliale, indipendente da linfociti o allergeni, può avviare un **T helper 2 (TH2) cascata infiammatoria**.

I topi che esprimono una variante con perdita di funzione del **TGF $\beta$ R1** identificata nei pazienti atopici sviluppano spontaneamente una malattia che clinicamente, immunologicamente, istologicamente e trascrizionalmente ricapitola **l'esofagite eosinofila**. In vivo e in vitro, le cellule epiteliali che esprimono la **variante TGF $\beta$ R1** sono iperproliferative, non riescono a differenziarsi correttamente e sovraesprimono i mediatori proinfiammatori innati, che persistono in assenza di linfociti o allergeni esterni.

È stato a lungo riconosciuto che il **TGF $\beta$**  svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento della tolleranza attraverso gli effetti sulle cellule del sistema immunitario adattativo

*Shull MM et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. Nature. 1992 Oct 22;359(6397):693-9.*



**Il Fattore attore di crescita trasformante beta (o TGF- $\beta$ )** è una proteina secreta (quindi presente nello spazio extracellulare) che fa parte del gruppo delle citochine. Esiste in almeno tre isoforme chiamate TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 e TGF- $\beta$ 3. Spesso per TGF- $\beta$  si riferisce a TGF- $\beta$ 1, il quale è stato il primo membro scoperto di questa famiglia proteica. La **famiglia di proteine TGF- $\beta$**  è parte della superfamiglia del fattore di crescita trasformante beta, che include le attivine, le inibine, l'ormone anti-mulleriano, la proteina morfogenetica dell'osso, decapentaplegic e Vg-1. Il suo recettore ha attività di chinasi in serina treonina.

Tra i ruoli svolti dalla segnalazione di TGF- $\beta$  vi sono quello di controllare la proliferazione, la differenziazione ed altre funzioni nella maggior parte delle cellule. Svolge un ruolo nell'immunità, nel cancro, nell'asma

bronchiale, nella malattia cardiaca, nel diabete mellito, nella sindrome di Loeys–Dietz, nella malattia di Parkinson e nell'AIDS. L'iperespressione del **TGF- $\beta$**  è responsabile della sindrome di Marfan, una malattia autosomica dominante che colpisce primariamente il tessuto connettivo. Sembra inoltre che abbia un ruolo nella funzione riproduttiva, nello sviluppo, nella motilità, nell'adesione, nella morfogenesi dell'osso, nella cicatrizzazione delle ferite.

Questo ruolo è molto diversificato a seconda dei tessuti in cui vengono secreti e delle quantità in cui sono espressi; in alcuni casi possono anche agire da potenti inibitori della crescita come è stato osservato in una varietà di cellule epiteliali, endoteliali e linfoidi. La maggior parte dei tessuti hanno una elevata espressione dei geni codificanti **TGF- $\beta$** . Ciò contrasta con altre citochine antinfiammatorie come l'interleuchina 10, la cui espressione è minima in tessuti non stimolati e sembra essere richiesta dalla flora batterica patogena o commensale.

**TGF-beta** agisce come un fattore antiproliferativo in cellule epiteliali nei primi stadi dell'oncogenesi.

Alcune cellule che producono **TGF- $\beta$**  hanno anche recettori per **TGF- $\beta$** , e quindi possono eseguire una segnalazione autocrina. Le cellule tumorali aumentano la loro produzione di **TGF- $\beta$** , il quale influisce sulle cellule intorno.

Il team del *National Institute of Allergy* coordinato da **Pamela Guerriero**



ha rilevato un ruolo fondamentale del **TGF $\beta$**  nel mantenimento dell'omeostasi immunitaria e nella prevenzione dell'infiammazione allergica tessuto-specifica attraverso effetti diretti sulle cellule non ematopoietiche, facendo luce sulla biologia unica e complessa delle cellule epiteliali esofagee dimostrando che *i difetti intrinseci delle cellule che influenzano la loro differenziazione* sono sufficienti per avviare una *cascata immunitaria innata* che porta **all'infiammazione allergica**.

Il lavoro dimostra inoltre come la disfunzione in un **singolo gene** può portare alle manifestazioni cardinali della malattia allergica: l'infiltrato infiammatorio, i risultati istologici, i cambiamenti dell'espressione genica e le caratteristiche cliniche.

Un concetto importante che emerge chiaramente è che *l'infiammazione allergica*, e in particolare ***EoE***, può essere iniziata e sostenuta da **mediatori di origine epiteliale** indipendenti dal sistema immunitario adattativo e che il “disagio” delle cellule epiteliali esofagee, causato, in parte, da una differenziazione aberrante e da un'eccessiva proliferazione, sia un *evento iniziale* in una cascata infiammatoria cronica.

L'espressione di **Tnf e Il1b** da parte delle cellule epiteliali esofagee R1 è elevata, ed entrambe le citochine possono influenzare la contrazione della *muscolatura liscia esofagea*, con conseguente disfagia e *occlusione alimentare*.

Cumulativamente, il danno tissutale, l'accumulo locale di mediatori dell'infiammazione, l'aumentata espressione delle molecole di adesione e i cambiamenti meccanici facilitano il reclutamento, lo stravasamento, la proliferazione e l'attivazione di **eosinofili, mastociti**, ILC2, APC e cellule T, nonché la disfunzione esofagea, i segni distintivi di **EoE**.

Tuttavia prove crescenti suggeriscono che **le cellule T** non sono l'unica, o addirittura primaria, fonte di citochine **TH2** in **EoE**. Le cellule immunitarie innate residenti nei tessuti rispondono alle allarmine rilasciate dalle cellule epiteliali e stromali in difficoltà producendo citochine di tipo 2. I mastociti IL-33R alti e gli ILC2 concentrati sulle superfici della barriera sono pronti a secernere rapidamente citochine di tipo 2 in risposta alle allarmine derivate dall'epitelio, ed entrambi i lignaggi sono aumentati nelle biopsie EoE umane e nell'esofago R1.

Nei pazienti con **EoE attiva**, i mastociti attivati esprimono **IL5 e IL13** (51). IL-5 da ILC2 attivati, mAPC e mastociti può supportare la proliferazione e la sopravvivenza degli eosinofili. Una volta in un tessuto, gli **eosinofili** stessi possono perpetuare le risposte di tipo 2 attraverso l'espressione di **IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13**

#### **In conclusione:**

Lo *stroma esofageo* possiede tutte le prerogative di un tessuto immunitario innato dinamico e contemporaneamente evidenzia le potenzialità dell'epitelio di controllare le risposte immunitarie localizzate e pone il **TGFβ** come un regolatore centrale in questo processo.

#### **Un anno fa... Baedeker/Replay del 8 Febbraio 2022**

*Che cosa farebbe Ippocrate?*

"Cosa farebbe Ippocrate?", ci si potrebbe chiedere in questi tempi disperati alla ricerca di risposte all'epidemia di coronavirus (COVID-19). Considerando la mancanza di tecnologia moderna nei primi giorni della medicina, probabilmente avrebbe fatto affidamento sui suoi sensi e istruito i medici ad annusare l'alito del paziente per una diagnosi. Sebbene annusare fisicamente l'alito di un potenziale paziente contaminato sia l'ultima cosa che vorremmo fare in questo momento a causa del rischio di trasmissione che comporta, annusare con un tocco moderno, ad esempio attraverso nasi elettronici o tecnologie simili, potrebbe avere qualche utilità nella nostra quotidiana battaglia di oggi contro la pandemia di COVID-19. I pazienti che manifestano sintomi sono invitati a contattare i propri medici e indirizzati a test diagnostici SARS-CoV-2 quando si sospetta COVID-19. Ciò provoca un afflusso di pazienti sintomatici ansiosi agli ospedali, infetti o meno da SARS-CoV-2, mettendo a dura prova il sistema sanitario. Un aspetto fondamentale è ottenere una buona diagnosi differenziale con altri disturbi respiratori infettivi (adenovirus, influenza, virus respiratorio sinciziale). Da un anno diagnosticiamo il COVID-19 raccogliendo campioni dal tratto respiratorio superiore (tamponi naso e orofaringei) o inferiore (espettorato indotto, aspirato endotracheale, lavaggio broncoalveolare) utilizzando tamponi. Il materiale genetico estratto da questi campioni viene poi amplificato mediante RT-PCR, alla ricerca del codice genetico SARS-CoV-2. Se positivo, si consiglia di ripetere il test per la conferma. Inoltre, nei pazienti con COVID-19, questo test dovrebbe essere ripetuto per valutare la clearance virale, il tutto richiedendo tempo. Inoltre, è stata sollevata preoccupazione per il tasso di falsi negativi di RT-PCR e le tecniche di campionamento. Poiché le attuali tecniche di campionamento si basano fortemente sulle capacità della persona che preleva il campione e sui tempi, introdurrà una variabilità nei risultati del test.

**Una revisione sistematica della Clinical Biostatistics Unit, Hospital Universitario Ramón y Cajal IRYCIS, Madrid** ha concluso che fino al 29% dei pazienti potrebbe avere un risultato iniziale falso negativo RT-PCR (Arevalo-Rodriguez I 2020) Sebbene questa revisione abbia diversi limiti, come il rischio di bias e un'elevata eterogeneità, almeno altri due studi hanno riportato risultati simili. Uno studio ha mostrato un tasso di falsi negativi dell'11%, 27% e 40% rispettivamente nei campioni di espettorato, nasale e gola durante i primi 7 giorni dopo l'esordio dei sintomi Yang Y et al 2020 Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections (submitted) <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.20021493>

**Un altro studio del Institute of Hepatology, National Clinical Research Center for Infectious Disease, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen** , ha riportato un tasso di positività reale del 67% utilizzando RT-PCR in pazienti con sintomi respiratori acuti e una TC toracica indicativa di COVID19, mentre è stata osservata una sierconversione anticorpale del 93% Zhao J et al 2020 Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 Clin Infect Dis ctaa344 Poiché l'uso dei tamponi è percepito come “molto sgradevole dal paziente”, un'alternativa rapida e non invasiva sarebbe vantaggiosa come ad esempio analizzare il respiro per individuare la presenza del virus. La vita di un uomo è l'intervallo di tempo fra la sua prima e la sua ultima respirazione. La vita non si misura dal numero di respiri che facciamo ma dai momenti che ci tolgono il respiro, e questo malefico virus lo può fare. Come ci invita Daniela durante le sue emozionanti presentazioni: *respirate...respirate...respirate*. Il respiro è il ponte che collega la vita alla coscienza, che unisce il corpo ai nostri pensieri. Ogni volta che la nostra mente si disperde, utilizziamo il respiro come mezzo per prendere di nuovo in mano la nostra mente. È qui che entra in scena la *Breathomics*. Il respiro esalato è costituito da una fase gassosa e da una fase liquida. La fase gassosa racchiude N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e composti organici volatili (VOC) presenti in concentrazioni picomolari. I COV possono derivare da cellule in vivoattività metabolica e possono essere indotti anche da processi patologici, anche se bisogna fare attenzione a non confondere questi COV con COV di origine esogena legati a farmaci, dieta o ambiente che possono entrare in equilibrio con l'organismo. La fase liquida, invece, racchiude sia il condensato del respiro esalato (EBC) che gli aerosol (EBA), contenenti un'ampia gamma di molecole non volatili, come citochine, chemochine, perossido di idrogeno, ammoniaca, adenosina, leucotrieni, isoprostani, ossidi di azoto, peptidi, DNA e RNA

L'analisi dell'EBC ha dimostrato....

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