

9. agosto

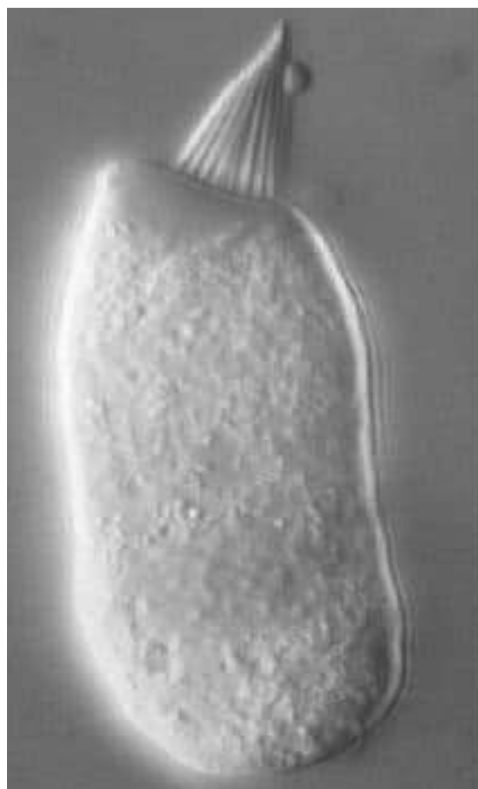
## Le brush cell tracheali: un “hub centrale” nei programmi di difesa epiteliale globale

*Gli attaccanti vincono le partite.*

*Le difese i campionati.*

John Gregory

Le **brush cell** ( chiamate anche a pennello, a ciuffo, o cellule chemosensoriali colinergiche), un tipo di cellula raro (~ 1%) dell'epitelio respiratorio, occupano una posizione centrale nel sorvegliare la composizione del fluido di rivestimento delle vie aeree e nell'iniziare reazioni di difesa in risposta a agenti patogeni.



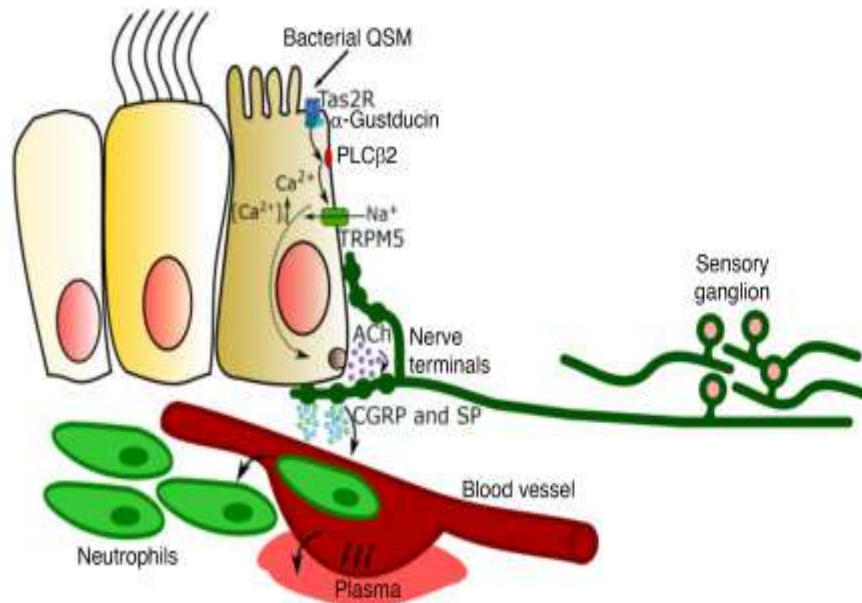
Il loro repertorio effettore include:

### L'eccitazione delle fibre nervose sensoriali

Stimolano le terminazioni nervose sensoriali adiacenti nella trachea a rilasciare i neuropeptidi CGRP e la sostanza P che mediano lo stravasamento plasmatico, il reclutamento dei neutrofili e la diapedesi.

Esprimono inoltre i recettori funzionali del gusto che se stimolati possono dare infiammazione neurogena

L'attivazione coinvolge il gene chiave di trasduzione del gusto Trpm5, innesca la secrezione di mediatori immunitari, il sistema del complemento, indispensabile per combattere le infezioni da *P. aeruginosa*.



Meccanismo proposto di induzione dell'infiammazione neurogena dopo stimolazione della cascata di segnalazione amara nei BC epiteliali tracheali con sostanze amare o batteriche.

Le sostanze si legano ai recettori del gusto amaro, che attivano l' $\alpha$ -gustducina, portando a  $Ca^{2+}$ rilascio dai depositi intracellulari che attiva il rilascio di Trpm5 e ACh dai BC.

L'ACh rilasciato si lega quindi ai recettori ACh sui neuroni sensoriali, portando allo stravasamento plasmatico e al reclutamento dei neutrofili tramite il rilascio di CGRP e SP e all'infiammazione neurogena.

*Hollenhorst MI et al. [Bitter taste signaling in tracheal epithelial brush cells elicits innate immune responses to bacterial infection. J Clin Invest. 2022 Jul 1;132\(13\):e150951.](#)*

### La promozione delle risposte immunitarie di tipo 2

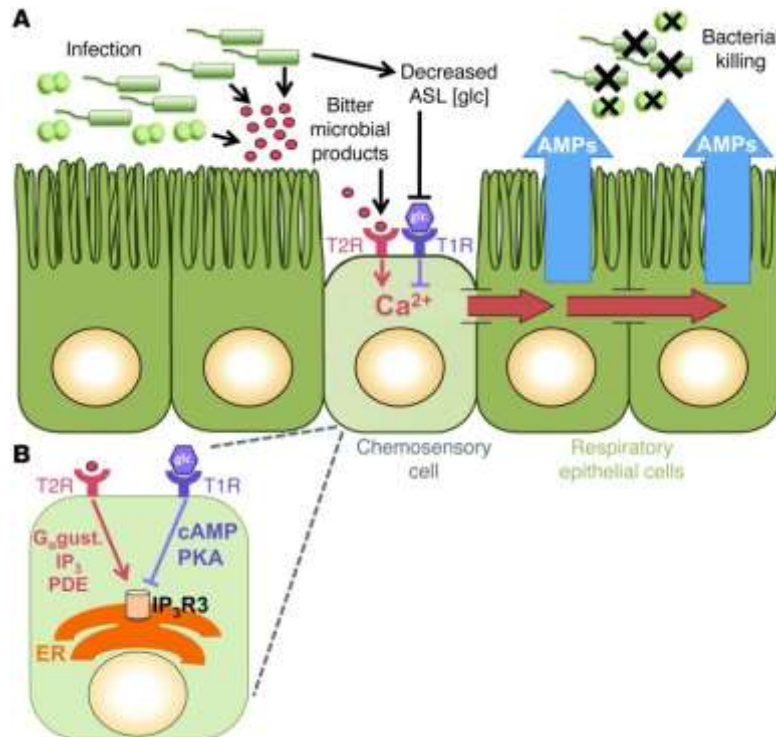
Stimolando le cellule epiteliali a produrre *interleuchina 25 (IL-25)*

*Bankova LG et al. [The cysteinyl leukotriene 3 receptor regulates expansion of IL-25-producing airway brush cells leading to type 2 inflammation. Sci Immunol. 2018 Oct 5;3\(28\):eaat9453.](#)*

### Stimola il rilascio di peptidi antimicrobici

In particolare le  $\beta$ -defensine 1 e 2, che sono in grado di uccidere direttamente i batteri.

E' pertanto possibile ricostruire un modello di regolazione basata sul recettore amaro T2R e sul recettore dolce T1R della secrezione di AMP nel naso umano.



( A ) Da sinistra a destra, le sostanze chimiche amare rilasciate dai microbi durante l'infezione attivano i T2R nell'epitelio sinonasale ( 10 ), probabilmente compresi quelli espressi nelle cellule epiteliali chemosensoriali non ciliate, probabilmente gli SCC precedentemente descritti ( 11-14).

Ciò si traduce in una risposta del calcio che si propaga alle cellule epiteliali circostanti, causando la secrezione di più AMP, comprese le  $\beta$ -defensine 1 e 2, che sono in grado di uccidere direttamente i batteri. Il glucosio nell'ASL regola normalmente la risposta mediata da T2R attraverso l'attivazione di T1R2/3.

Tuttavia, durante le infezioni acute, i batteri possono consumare glucosio e diminuire la concentrazione di glucosio ASL, che allevia l'inibizione mediata da T1R2/3 dei T2R e consente l'attivazione della risposta antimicrobica.

( B ) Meccanismo proposto per la segnalazione T2R e T1R nelle cellule chemosensoriali sinonasali. La segnalazione T2R dipende dai canali di rilascio del calcio  $G\alpha$ -gustducin e IP 3 R che probabilmente includono l'IP 3 isoforma R3. La segnalazione T1R utilizza probabilmente una proteina G alternativa che agisce attraverso cAMP/PKA e può inibire la segnalazione del calcio mediata da IP 3 R3.

Lee RJ et al *Bitter and sweet taste receptors regulate human upper respiratory innate immunity.* *J Clin Invest.* 2014 Mar;124(3):1393-405.

E' stato definitivamente dimostrato un legame con la clearance mucociliare, il principale meccanismo di difesa innato nella rimozione di agenti patogeni intrappolati dal muco dalle vie aeree

**Perniss A et al. *Chemosensory Cell-Derived Acetylcholine Drives Tracheal Mucociliary Clearance in Response to Virulence-Associated Formyl Peptides*. *Immunity*. 2020 Apr 14;52(4):683-699.e11.**

Questo processo richiede la generazione di una forza meccanica per guidare il trasporto e un'adeguata secrezione fluida per idratare e facilitare il flusso del muco viscoso. La forza motrice richiesta è fornita dalle *cellule ciliate*, ciascuna delle quali è dotata di 100-200 ciglia mobili che battono tutte verso la laringe in modo coordinato, generando un flusso diretto del fluido di rivestimento.

Tuttavia per consentire un trasporto efficace, le ciglia devono muoversi liberamente in un fluido periciliare a bassa viscosità e il muco deve essere adeguatamente idratato. Ciò si ottiene mediante la secrezione attiva di ioni, seguita passivamente dall'acqua.

La *secrezione di cloruro* da parte delle cellule secretorie occupa una posizione chiave nella formazione e nella regolazione delle proprietà fisico-chimiche di questo componente acquoso del fluido di rivestimento delle vie aeree

**Hahn A et al. *Cellular distribution and function of ion channels involved in transport processes in rat tracheal epithelium*. *Physiol Rep*. 2017 Jun;5(12):e13290.**

Sia la corretta funzione ciliare che la secrezione ionica sono entrambe indispensabili per mantenere un'efficace **clearance mucociliare**, poiché un difetto isolato in uno solo di essi si traduce in una funzione di compensazione complessivamente insufficiente con conseguenti patologie.

Le infezioni respiratorie ricorrenti sono la caratteristica distintiva di varie forme di discinesia ciliare primaria con movimento anormale delle ciglia e della **fibrosi cistica**, una delle più comuni malattie ereditarie causate da mutazioni nel regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica del canale ionico Cl<sup>-</sup> e bicarbonato (CFTR)

**Shteinberg M et al. *Cystic fibrosis*. *Lancet*. 2021 Jun 5;397(10290):2195-2211.**

*Nella trachea del topo, l'attivazione delle cellule del pennello stimola l'attività ciliare attraverso il rilascio paracrino di acetilcolina (ACh), con conseguente aumento della frequenza del battito ciliare (CBF) e velocità di trasporto accelerato delle particelle (PTS) sulla superficie tracheale.*

La trasduzione del segnale nelle **brush cell** richiede l'azione della **fosfolipasi C $\beta$ 2 (PLC $\beta$ 2)** e **TRPM5** (membro 5 della sottofamiglia M del canale del potenziale transitorio del recettore) un canale cationico monovalente originariamente identificato nella cascata di segnalazione a valle delle cellule gustative di tipo II nell'orofaringe gusto e l'attività di fattori scatenanti come specifici formil peptidi batterici associati alla virulenza

**Pérez CA et al. *A transient receptor potential channel expressed in taste receptor cells*. *Nat Neurosci*. 2002 Nov;5(11):1169-76.**

Tuttavia, nonostante questi progressi, non è chiaro attraverso quali recettori le cellule a spazzola rilevino i segnali associati al pericolo, come il rilascio spazialmente limitato di ACh da un raro tipo di cellula epiteliale si traduca in un movimento di massa di fluido e particelle sulla superficie della mucosa e se questo la stimolazione dell'attività ciliare è accompagnata da un'adeguata secrezione ionica, la seconda componente essenziale della clearance mucociliare.

Negli ultimi anni I ricercatori del *Institute of Anatomy and Cell Biology, German Center for Lung Research, Justus Liebig dell'Università di Giessen (Germania)*



stanno cercando di identificare una coppia ligando-recettore molecularmente definita che attiva selettivamente le cellule a pennello nella trachea del topo, per visualizzare la diffusione dell'attività sia alle cellule ciliate che a quelle secretorie sulla superficie della mucosa mediante imaging spaziotemporale di  $Ca^{2+}$  ad alta risoluzione e per determinare gli effetti sull'attività ciliare e sul trasporto ionico transepiteliale.

Pochi giorni fa hanno pubblicato su **Science Advances** il report

*Perniss A et al*

**A succinate/SUCNR1-brush cell  
defense program in the tracheal epithelium.**

*Sci Adv. 2023 Aug 2;9(31):eadg8842.*

**Questo studio** ha identificato **SUCNR1** come un recettore delle cellule della spazzola tracheale che innesca la segnalazione colinergica sequenziale e basata sul connesone, che si traduce in un'onda di  $Ca^{2+}$  a lungo raggio che si diffonde radialmente che guida la stimolazione complessiva dell'attività ciliare e della secrezione di  $Cl^{-}$ .

Poiché solo l'applicazione apicale ma non basolaterale del flusso ionico transepiteliale indotto dal succinato del ligando SUCNR1, questo sensore è specificamente progettato per rilevare la concentrazione di **succinato intraluminale** che lo qualifica come un monitor di situazioni di pericolo.

È noto che i livelli di **succinato nel lume** delle vie aeree sono elevati durante le infezioni batteriche raggiungendo concentrazioni sufficienti per evocare le risposte cilioattivanti e secretorie qui riportate.

Contrariamente agli attivatori precedentemente identificati delle cellule del pennello tracheale come le molecole quorum-sensing di *Pseudomonas aeruginosa* (1, 7) e i peptidi segnale batterici formilati associati alla virulenza prodotti da distinti patogeni polmonari (8), il **succinato** non è prodotto da patogeni batterici che si insediano in le vie aeree.

Nel corso dell'infezione batterica, *i macrofagi* classicamente attivati o M1 accumulano succinato mitocondriale, che viene poi rilasciato nel citoplasma e, infine, secreto in quantità considerevoli, raggiungendo >10 mM nel liquido di lavaggio broncoalveolare nei topi infetti da *P. aeruginosa* (19). In questo scenario, il succinato prodotto dall'ospite alimenta persino l'infezione in quanto è la fonte di carbonio preferita per *P. aeruginosa* (55).

Il succinato derivato dall'ospite si accumula nelle vie aeree durante l'infezione batterica. Qui, mostriamo che il succinato luminale attiva le cellule del pennello tracheale murino (ciuffo) attraverso una cascata di segnalazione che coinvolge il recettore del succinato 1 (SUCNR1), la fosfolipasi C $\beta$ 2 e la sottofamiglia del canale potenziale transitorio del canale cationico M membro 5 (TRPM5).

Le cellule a pennello stimulate attivano quindi un'onda di Ca<sup>2+</sup> a lungo raggio che si diffonde radialmente sull'epitelio tracheale attraverso un processo di segnalazione sequenziale. In primo luogo, le cellule del pennello rilasciano acetilcolina, che eccita le cellule vicine tramite i recettori muscarinici dell'acetilcolina. Da lì, il Ca<sup>2+</sup> l'onda si propaga attraverso la segnalazione della gap junction, raggiungendo anche cellule ciliate e secretorie distanti.

Queste cellule effettrici traducono l'attivazione in una maggiore attività ciliare e nella secrezione di Cl<sup>-</sup>, che sono sinergici nell'aumentare la clearance mucociliare, il principale meccanismo di difesa innato delle vie aeree.

Questi dati stabiliscono con certezza che le brush cell costituiscono un hub centrale nell'attivazione di un programma di difesa epiteliale globale in risposta a un metabolita associato al pericolo.

## Il sequestro del ferro nei biofilm del microbiota: una nuova strategia per il trattamento delle malattie infiammatorie intestinali

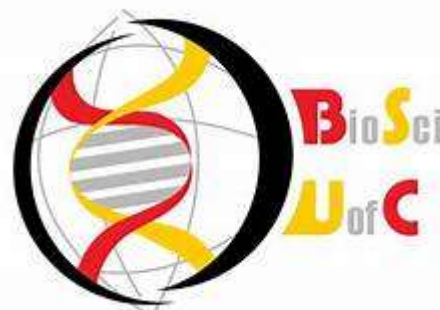
I limiti terapeutici, i costi elevati e gli effetti avversi dei farmaci attualmente disponibili per il trattamento della **malattia infiammatoria intestinale (IBD)** sottolineano la necessità di farmaci più efficaci e sicuri.

Sebbene l'anemia sia una delle complicanze extraintestinali più comuni dell'IBD, l'integrazione dietetica di ferro porta all'esacerbazione della malattia e a un rischio più elevato di infezione, probabilmente attraverso alterazioni del microbiota commensale e una maggiore abbondanza di *Enterobacteriaceae*.

Oltre alle anomalie tassonomiche del microbiota associate all'IBD (diminuzione della diversità, aumento della rappresentazione dei proteobatteri), si sospetta la presenza di patogeni (ad esempio ceppi aderenti-invasivi di *Escherichia coli*) o risposte anormali dell'ospite verso i commensali.

Una migliore comprensione delle alterazioni funzionali del microbiota intestinale durante l'IBD è assolutamente necessaria e potrebbe aprire la strada a terapie più precise.

I ricercatori del *Department of Biological Sciences, University of Calgary*, coordinati da **Jan Paul Motta**

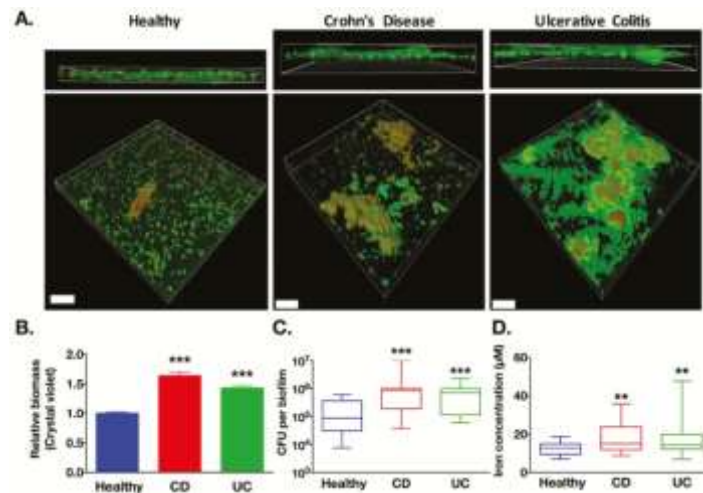


hanno evidenziato come Alterazioni significative del microbiota intestinale e dell'anemia sono segni distintivi della malattia infiammatoria intestinale (IBD).

È ampiamente accettato che il ferro sia un nutriente chiave per i batteri patogeni, ma si sa poco del suo impatto sul microbiota associato all'IBD.

Il team ha utilizzato un dispositivo modello per far crescere il microbiota associato alla mucosa umana nel suo fenotipo di biofilm anaerobico fisiologico. Rispetto al microbiota di donatori sani, il microbiota di pazienti con IBD genera biofilm ex vivo di dimensioni e numero di cellule maggiori, conteneva concentrazioni di ferro intracellulare più elevate e mostrava una maggiore virulenza in un modello di epitelio intestinale umano in vitro e nel nematode *Caenorhabditis elegans*.

**In sintesi Il microbiota dei pazienti con IBD forma biofilm più grandi rispetto al microbiota dei controlli sani e contiene una quantità maggiore di ferro intracellulare**



I biofilm del microbiota umano (sani; morbo di Crohn, CD: colite ulcerosa UC) sono stati coltivati sul Calgary Biofilm Device. È stata eseguita la microscopia confocale a scansione laser dei biofilm, la matrice extracellulare dei biofilm è stata colorata con arancio di acridina (verde) e DNA batterico con TO-PRO-3 (rosso). Le barre della scala corrispondono a 70 µm. **B**, I biofilm di pazienti con IBD avevano una biomassa relativa più elevata rispetto ai biofilm sani (colorazione con violetto di cristallo, n = da 145 a 313 biofilm per gruppo). **C**, I biofilm di pazienti con IBD contenevano un numero maggiore di unità formanti colonie (CFU per biofilm) rispetto ai biofilm di biofilm sani (n = da 21 a 24 biofilm per gruppo). **D**, Un numero equivalente di batteri da biofilm IBD conteneva una maggiore concentrazione di ferro intracellulare rispetto ai biofilm sani (n = 3 · 3 biofilm per gruppo). B, ANOVA a 1 via seguita dai test di Dunnett. C, D, Kruskal-Wallis seguiti dai test di Dunn rispetto al gruppo sano a  $P < 0,01$ , b  $P < 0,001$

**Motta JP et al *Iron Sequestration in Microbiota Biofilms As A Novel Strategy for Treating Inflammatory Bowel Disease*. *Inflamm Bowel Dis*. 2018 Jun 8;24(7):1493-1502.**

Il team canadese ha ipotizzato che il microbiota con una maggiore capacità di accesso al ferro, e successivamente una maggiore virulenza, contribuisca in modo significativo all'infiammazione intestinale.

Pertanto ha valutato se nuovi derivati di un farmaco ampiamente utilizzato per il trattamento dell'infiammazione nei pazienti con IBD (cioè mesalamina a rilascio di idrogeno solforato) potessero avere un effetto diretto e benefico sul microbiota disbiotico associato a IBD in un modello biologicamente rilevante. Il microbiota infatti esiste naturalmente come biofilm nell'intestino crasso, sia in salute che durante la colite.

*I biofilm sono definiti come comunità di batteri racchiusi in una complessa matrice extracellulare composta da polisaccaridi, proteine, acidi nucleici e glicolipidi.*

E' stato utilizzato un modello consolidato per studiare i biofilm di microbiota multispecie ottenuti da tessuti di biopsia del colon umano ex vivo in condizioni anerobiche e statiche che riproduce parte della complessità delle interazioni microbico-microbiche in natura e quindi è servito come piattaforma interessante per eseguire studi preclinici su un farmaco progettato per correggere il comportamento disbiotico associato all'IBD.



Complessivamente i ricercatori canadesi hanno dimostrato che

***Il microbiota dei pazienti con IBD genera biofilm più grandi e mostra un maggiore apporto di ferro rispetto al microbiota dei controlli sani***

***I batteri dei biofilm IBD hanno un fenotipo più virulento I biofilm IBD inducono CXCL-8 elevato e risposte patogene rispetto ai biofilm sani***

***I derivati della mesalamina a rilascio di idrogeno solforato hanno potenti proprietà chelanti del ferro***

***ATB-429 limita l'assunzione di ferro nei biofilm associati alla colite e modifica il loro metaboloma, ma non la loro composizione***

***ATB-429 riduce le proprietà virulente e gli effetti proinfiammatori associati dei biofilm IBD in vitro e riduce la gravità della colite sperimentale nei topi***

In particolare viene descritta anche un'inaspettata proprietà di scavenging del ferro per un derivato sperimentale di rilascio di idrogeno solforato della **mesalamina**. I risultati dimostrano che questo nuovo farmaco riduce la virulenza dei biofilm del microbiota IBD attraverso una riduzione diretta dell'assunzione di ferro microbico e senza influire sulla sopravvivenza dei batteri o sulla composizione delle specie all'interno del microbiota.

Le analisi metabolomiche indicano che questo farmaco **riduce l'assunzione di nucleosidi purinici (guanosina), aumenta la secrezione di marcatori metaboliti del catabolismo purinico (urato e ipoxantina) e riduce la secrezione di uracile (una base pirimidinica) in complessi biofilm umani multispecie.**

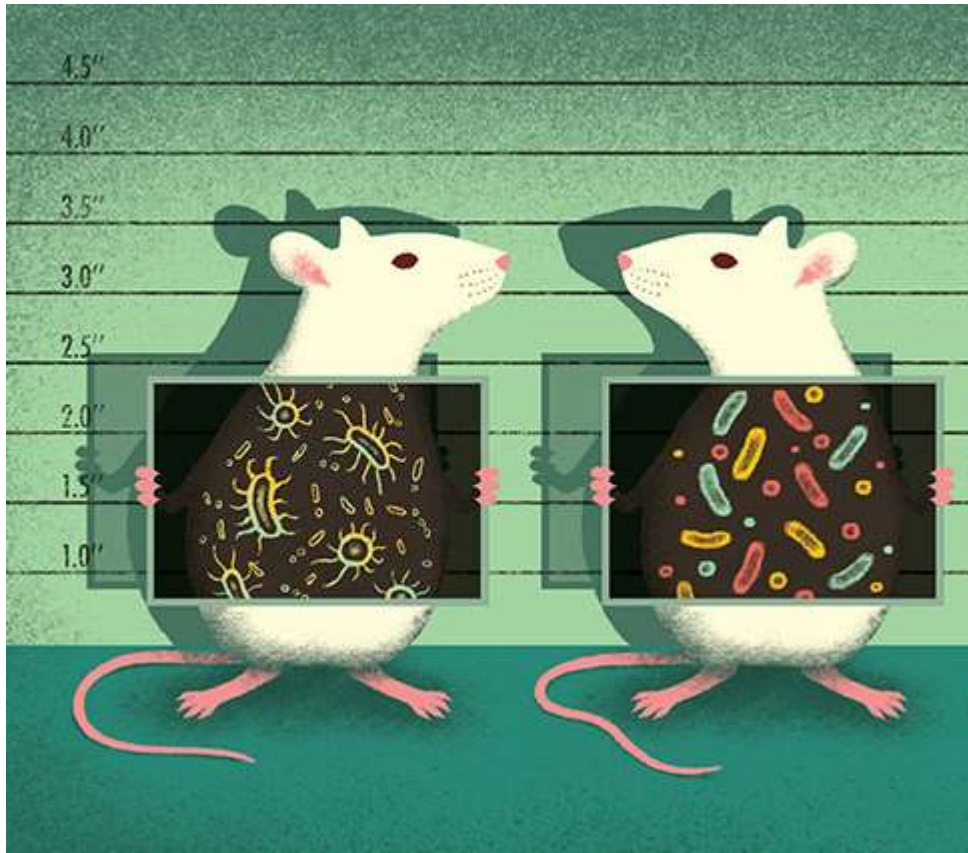
Questi risultati dimostrano un nuovo meccanismo patogeno per il microbiota disbiotico nell'IBD e caratterizzano una nuova modalità di azione per una classe di derivati della mesalamina. Insieme, queste osservazioni aprono la strada a una nuova strategia terapeutica per il trattamento dei pazienti con IBD.

In sintesi, questo studio offre nuove prove del fatto che i biofilm del microbiota intestinale cresciuti ex vivo da pazienti con IBD sono caratterizzati da un maggiore assorbimento di ferro e maggiori proprietà virulente rispetto ai biofilm di soggetti sani.

I risultati forniscono anche prove di principio che un nuovo farmaco antinfiammatorio che rilascia H<sub>2</sub>S può sopprimere l'assunzione di ferro nel complesso microbiota intestinale multispecie cresciuto nel loro fenotipo di biofilm naturale, riducendo quindi la loro virulenza senza modificare la composizione complessiva e la sopravvivenza .

Queste sono osservazioni promettenti nei nostri tentativi di generare progressi verso lo sviluppo di una nuova terapia per l'IBD che aiuterà a colpire sia l'infiammazione dell'ospite che la disbiosi del microbiota.

# Buone Vacanze



A tutti piace un po' di competizione.

Jamie Dornan