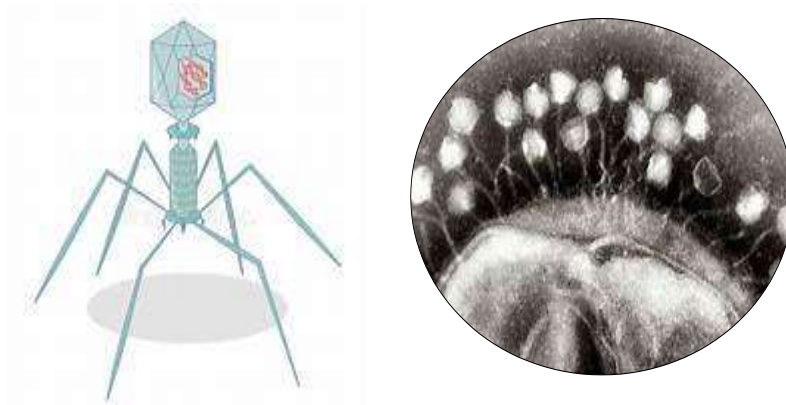


30. OTTOBRE

A volte ritornano: la terapia batteriofagica

Il virus è l'ultimo predatore dell'uomo.

Robin Cook



I **batteriofagi** o **fagi** sono virus batterici che più di un secolo fa furono progettati come un efficace rimedio antimicrobico e come tali furono ampiamente utilizzati **soprattutto nelle ex repubbliche sovietiche**. Nonostante l'eccitazione iniziale, e data la scoperta degli antibiotici, l'interesse per il trattamento antibatterico dei fagi è gradualmente diminuito. Tuttavia, l'esplorazione del trattamento dei fagi nelle malattie infettive è riemersa per affrontare il problema allarmante e in espansione a livello globale della **resistenza agli antibiotici ad ampio spettro**. Inoltre, dato il crescente apprezzamento dei diversi ruoli del microbiota **nella modulazione della salute e delle malattie non trasmissibili (NCD)**, i **fagi** potrebbero costituire una **promettente terapia mirata contro i batteri commensali (o patobionti)** che vivono naturalmente nel corpo ma contribuiscono alle malattie non trasmissibili.

I principali vantaggi della terapia fagica per le infezioni includono la specificità dei fagi rispetto ai batteri predati, riducendo così al minimo il danno al microbiota circostante; una scarsità di effetti fuori bersaglio dell'ospite eucariotico; e la moltiplicazione dei fagi dopo l'invasione delle cellule batteriche che consente, dopo la lisi cellulare, la propagazione e l'impegno di nuovi bersagli. In alcuni casi, il trattamento con fagi può persino conferire sensibilità agli antibiotici in infezioni precedentemente resistenti agli antibiotici
Eskenazi A et al. Combination of pre-adapted bacteriophage therapy and antibiotics for treatment of fracture-related infection due to pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae. Nat Commun. 2022 Jan 18;13(1):302.

Tuttavia, ci sono anche sfide nell'uso dei fagi come agenti anti-infettivi, inclusa la stimolazione di una risposta immunitaria attraverso il loro carico antigenico estraneo e il materiale genetico; l'emergere della resistenza antifagica batterica, mediata da mutazioni spontanee nei recettori dei fagi batterici che li rendono resistenti all'impegno dei fagi; e una moltitudine di meccanismi di difesa antifagica. Queste difese includono endonucleasi di modifica della restrizione, CRISPR e più di 100 altri sistemi di difesa recentemente scoperti che forniscono ai batteri più strati di protezione in ambienti ricchi di fagi, compromettendo così l'efficacia del trattamento dei fagi.

Doron S et al. Systematic discovery of antiphage defense systems in the microbial pangenome. Science. 2018 Mar 2;359(6379):eaar4120.

I microbiota sono costituiti da diverse comunità di microrganismi che risiedono in prossimità delle superfici delle mucose, dove influenzano una pletora di funzioni fisiologiche dell'ospite. Le alterazioni nella struttura della comunità del microbiota (disbiosi) sono sempre più legate a malattie umane, tra cui **malattie cardiovascolari, diabete di tipo 1 e di tipo 2, malattie infiammatorie intestinali (IBD), alcuni tumori e**

persino neurodegenerazione. Gli approcci sperimentali che alterano il microbiota, come la nutrizione personalizzata, i probiotici di precisione, il trapianto di microbiota e l'integrazione di metaboliti, mirano a modulare la composizione e la funzione del microbiota verso una configurazione più sana. Tuttavia, la soppressione mirata dei patogeni che contribuiscono alla malattia senza indurre disbiosi nell'ecosistema microbico circostante rimane una scoraggiante esigenza insoddisfatta.

Il team del *Systems Immunology Department, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel.* nel report



Federici S et al

Targeted suppression of human IBD-associated gut microbiota commensals by phage consortia for treatment of intestinal inflammation.

Cell. 2022 Aug 4;185(16):2879-2898.e24.

Ha utilizzato una terapia di combinazione fagica per colpire un clade di ceppi di ***Klebsiella pneumoniae* (Kp)** recentemente identificati, resistenti agli antibiotici, associati a IBD umani nei topi. Ciò ha comportato un'efficace soppressione del Kp e una riduzione dell'infiammazione e della gravità della malattia. Inoltre, la vitalità e la sicurezza dei fagi somministrati per via orale sono state dimostrate nel tratto gastrointestinale di volontari umani sani. La costruzione razionale di un consorzio di fagi che prendeva di mira un ceppo batterico o un clade di ceppi di interesse, in cui ciascun membro del fago del consorzio impegnava i ceppi bersaglio attraverso un meccanismo diverso, ha impedito l'emergere della resistenza dei fagi. La somministrazione orale, se abbinata alla soppressione dell'acido gastrico, ha assicurato un incontro vitale dei fagi con il microbiota intestinale, tollerabilità e una minima disbiosi fuori bersaglio o effetti avversi nei partecipanti. Pertanto, l'applicazione dei consorzi fagici mirati a Kp nei pazienti con IBD che ospitano Kp (che si verifica nel 38% dei pazienti valutati in quattro coorti geograficamente diverse) merita ulteriori studi interventistici.

Il team della Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Keio University, Tokyo,



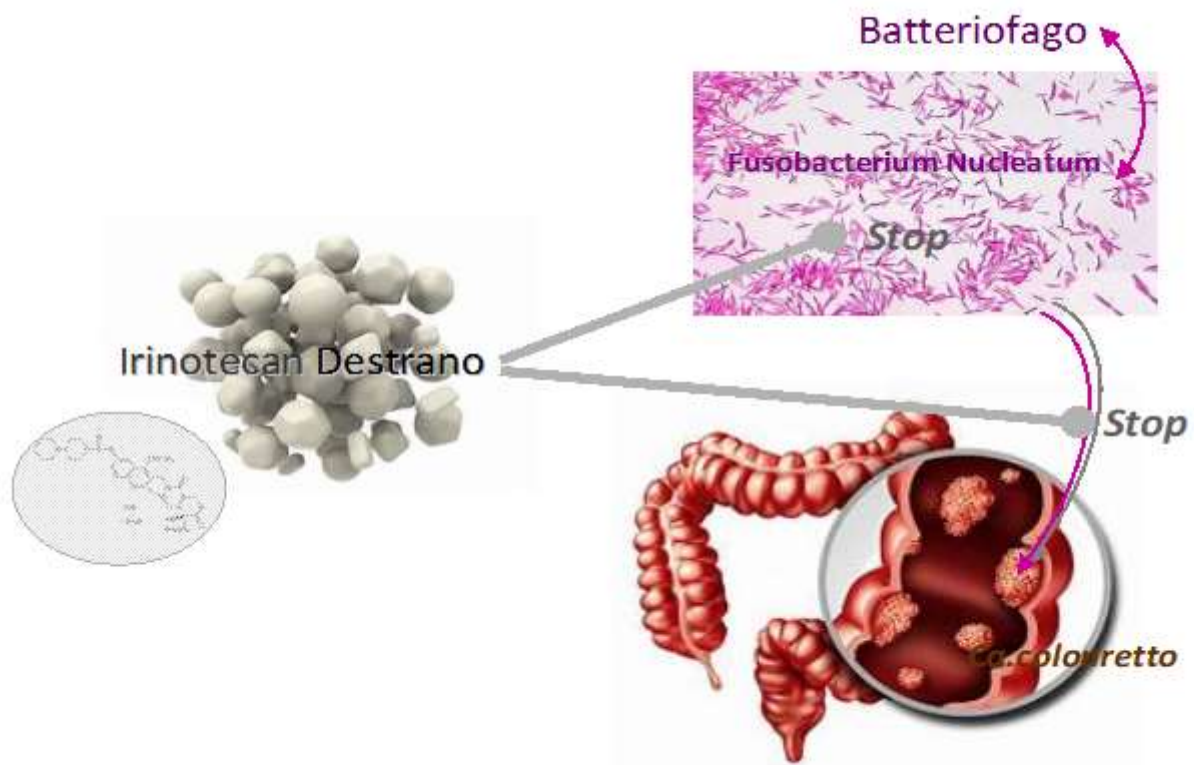
utilizzando una terapia di combinazione fagica virulenta che prende di mira un clade di Kp gastrointestinale arricchito in pazienti con colangite sclerosante primaria (PSC) ha dimostrato un effetto soppressivo prolungato in vitro e una riduzione in vivo della Kp fecale, insieme all'attenuazione dell'infiammazione epatica e della gravità della malattia in un modello murino di danno epatobiliare.

Ichikawa M et al. Bacteriophage therapy against pathological *Klebsiella pneumoniae* ameliorates the course of primary sclerosing cholangitis. Nat Commun. 2023 Jun 5;14(1):3261.

Allo stesso modo, l'uso di un singolo fago virulento che prende di mira un ceppo Kp produttore di alcol ha alleviato la steatoepatite nei topi, senza alterare il microbiota intestinale. L'intervento dei fagi è stato accompagnato dalla **soppressione dell'apoptosi epatica** e dei percorsi infiammatori, insieme a una maggiore produzione della **citochina antinfiammatoria interleuchina-10**.

Gan L et al. Bacteriophage targeting microbiota alleviates non-alcoholic fatty liver disease induced by high alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae*. Nat Commun. 2023 Jun 3;14(1):3215.

Future combinazioni di fagi potrebbero essere applicate per accoppiare la soppressione dei commensali che contribuiscono alla malattia con la somministrazione di farmaci mediata dai fagi in nicchie distinte. Ad esempio, il ***Fusobacterium nucleatum*** è stato collegato alla **progressione del cancro del colon-retto (CRC)** e all'alterata risposta all'immunoterapia e alla chemioterapia.



Un nanosistema, diretto da fagi progettati per colpire selettivamente ***F. nucleatum*** nel microambiente tumorale del CRC nei topi, ha incapsulato il farmaco antitumorale **irinotecan** in nanoparticelle di destrano. Tale terapia mirata ai fagi ha aumentato significativamente l'efficacia del trattamento chemioterapico e, allo stesso tempo, ha inibito la crescita intratumorale di ***F. nucleatum***

Zheng DW et al. Phage-guided modulation of the gut microbiota of mouse models of colorectal cancer augments their responses to chemotherapy. Nat Biomed Eng. 2019 Sep;3(9):717-728.

Oltre all'uso di **fagi vivi**, le proteine fagiche effettrici possono essere integrate come opzione terapeutica alternativa che consente la soppressione batterica indotta dai fagi senza le complessità associate alla somministrazione di terapie con fagi vivi, comprese *l'immunogenicità e la resistenza*.

Ad esempio, le **endolisine** sono idrolasi del peptidoglicano che si muovono, attraverso i pori preformati dai fagi, nello strato di mureina dei batteri Firmicutes, dove degradano la parete del peptidoglicano e quindi inducono la morte cellulare. L'utilizzo di versioni sintetiche migliorate delle **lisine fagiche** potrebbe consentire il trattamento di infezioni resistenti agli antibiotici e potenzialmente di malattie non trasmissibili.

Röhrig C et al Targeting Hidden Pathogens: Cell-Penetrating Enzybiotics Eradicate Intracellular Drug-Resistant Staphylococcus aureus. mBio. 2020 Apr 14;11(2):e00209-20.

Il trattamento con fagi deve essere adattato all'individuo, il che può essere facilitato dalla cocoltura di bersagli batterici raccolti dal paziente con potenziali fagi per identificare quelli con capacità antibatterica. In quanto tale, la profilazione metagenomica potrebbe essere utilizzata come strumento diagnostico complementare per identificare i patobionti dominanti che contribuiscono alla malattia in un paziente, seguita dall'ottimizzazione basata sulla coltura dei consorzi di fagi.

La terapia di combinazione fagica per le malattie non trasmissibili è in fase esplorativa. Le sfide della terapia fagica per le infezioni, tra cui l'immunogenicità, la resistenza e l'immunità batterica antifagica, restano da esplorare nel contesto delle malattie non trasmissibili in studi prospettici a lungo termine. L'isolamento dei fagi ambientali, la caratterizzazione genomica e funzionale e i test contro i pannelli batterici sono compiti ad alta intensità di lavoro, che vengono sempre più soddisfatti con l'automazione, insieme alla generazione di raccolte sostenibili di fagi isolati ambientalmente e/o clinicamente e proteine codificate dai fagi. Le biobanche dei fagi possono fornire fagi purificati, sequenziati e strutturalmente caratterizzati. Tali archivi di fagi possono consentire una valutazione dell'immunogenicità e di altri effetti avversi che sono stati accuratamente convalidati da studi clinici (NCT04650607) facilitando al contempo test rapidi dei fagi e delle loro combinazioni contro i rispettivi bersagli batterici.

Nei casi in cui l'isolamento dei fagi risulta difficile, diversi approcci alternativi possono consentire la conversione genomica della specificità dei fagi verso nuovi bersagli. In generale, i fagi temperati sono abbondanti ma meno desiderabili come agenti terapeutici perché integrano il loro genoma nel cromosoma batterico attraverso un processo che coinvolge integrasi e repressori. I fagi temperati che sono resi difettosi nell'integrazione possono ancora essere in grado di incorporare il loro materiale genetico nel batterio ma sono meno stabili e possono provocare, in alcuni casi, la conversione in uno stato virulento. Tali fagi ingegnerizzati possono essere incorporati in alcuni trattamenti di combinazione di fagi antibatterici

Dedrick RM et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant Mycobacterium abscessus. Nat Med. 2019 May;25(5):730-733.

Inoltre, la tossina batterica colibactina prodotta naturalmente può risvegliare i profagi dormienti nelle loro forme attive, consentendo la loro successiva trasformazione in fagi virulenti e clinicamente adatti

La progettazione e la selezione di fagi utilizzabili clinicamente possono essere facilitate dall'applicazione di compromessi evolutivi. Pertanto, lo sviluppo della resistenza ai fagi può essere accompagnato da una virulenza batterica compromessa. Questo compromesso, sfruttato sperimentalmente come "direttore dei fagi" per modificare la virulenza dei patogeni e ridurre la gravità dell'infezione può essere esplorato allo stesso modo nelle malattie non trasmissibili.

Burmeister AR et al. Pleiotropy complicates a trade-off between phage resistance and antibiotic resistance. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 May 26;117(21):11207-11216.

Nei casi in cui non vengono identificati fagi ambientali contro un patobionte, la biologia sintetica può consentire il reindirizzamento della specificità del fago scambiando componenti della coda del fago che riconosce, lega e inietta specificatamente il materiale genetico nel bersaglio batterico. I "corpi fagici" ingegnerizzati sinteticamente possono consentire ulteriori modifiche, portando, ad esempio,

all'acquisizione di un nuovo intervallo target batterico per consentire la specificità per i mutanti batterici resistenti

Yehl K et al. Engineering Phage Host-Range and Suppressing Bacterial Resistance through Phage Tail Fiber Mutagenesis. Cell. 2019 Oct 3;179(2):459-469.e9. doi: 10.1016/j.cell.2019.09.015. PMID: 31585083; PMCID: PMC6924272.

Il rilascio dei fagi costituisce un'importante considerazione terapeutica. I fagi somministrati per via orale affrontano condizioni biofisiche in rapido cambiamento nel loro passaggio lungo il tratto gastrointestinale umano. Il tempo di transito variabile, il consumo periodico di cibo e un pH che altera radicalmente possono influenzare la vitalità e l'attività dei fagi quando interagiscono con i loro bersagli batterici. Ulteriori metodi di rilascio intestinale, come la colonscopia e le capsule a rilascio prolungato e a rilascio temporizzato potrebbero ottimizzare il rilascio dei fagi in nicchie designate lungo l'intestino umano. L'impegno dei fagi con le mucine, le glicoproteine che formano lo strato di muco che fornisce lubrificazione e protezione lungo il tratto gastrointestinale, può ridurre gli incontri dei fagi con i patobionti aderenti alla mucosa, che spesso hanno ruoli nella funzione di barriera e nella tolleranza immunitaria e sono interrotti in una varietà di malattie non trasmissibili. Le formulazioni fagiche cutanee consentirebbero in modo ottimale una penetrazione sufficiente nei follicoli piliferi, in cui risiedono molti dei commensali della pelle. La somministrazione di fagi nel flusso sanguigno può integrare le vie di consegna locali e merita ricerche future.

Barr JJ et al. Subdiffusive motion of bacteriophage in mucosal surfaces increases the frequency of bacterial encounters. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Nov 3;112(44):13675-80.

Le sfide normative non devono essere trascurate. Attualmente, la regolamentazione della terapia fagica segue, nella maggior parte dei paesi, un percorso di valutazione e approvazione identico a quello dei candidati farmaci convenzionali. Tuttavia, poiché i fagi sono agenti biologici vivi, presentano numerose differenze rispetto ai farmaci tradizionali e quindi meritano una considerazione normativa su misura. Ad esempio, l'approvazione dei trattamenti farmacologici combinati spesso richiede prove di efficacia per ciascun componente. Nel caso dei fagi, un simile approccio probabilmente fallirebbe in molti casi, dato che la resistenza batterica si svilupperebbe contro alcuni o tutti i singoli fagi se somministrati come unico intervento. Dal punto di vista della sicurezza, la somministrazione diffusa (anche se scarsamente controllata) di fagi per più di un secolo, unita alla mancanza di recettori eucariotici conosciuti per i fagi, implica che tale trattamento dovrebbe essere sicuro.

Tuttavia, l'attivazione immunitaria innata e l'immunogenicità indotte dai fagi devono essere attentamente valutate in caso di somministrazione a lungo termine per il trattamento delle malattie non trasmissibili. Nel bilanciare queste considerazioni, sarebbe consigliabile una supervisione dedicata per adattare la valutazione normativa della terapia fagica alle sue caratteristiche distinte. Affrontare le sfide associate alla terapia dei fagi, sfruttandone al tempo stesso il potenziale terapeutico nelle malattie non trasmissibili umane, potrebbe consentire di sfruttare il potere antibatterico dei fagi nella medicina di precisione umana.

L'editore di [eLife](#) licenziato per i commenti su Gaza

Michael Eisen, redattore capo dell'importante rivista ad accesso libero [eLife](#), ha rilevato questa settimana di aver perso il lavoro per aver appoggiato pubblicamente un articolo satirico che criticava le persone che muoiono a Gaza per non aver condannato i recenti attacchi contro Israele da parte del gruppo palestinese Hamas.



Diversi redattori si sono già dimessi per protestare contro il suo licenziamento. In un post sui social media del 13 ottobre, Eisen, un genetista dell'Università della California, Berkeley, ha elogiato la "chiarezza morale" della notizia falsa pubblicata dal sito web The Onion.

Il giorno dopo, Eisen, che è ebreo, ha espresso orrore per gli attacchi di Hamas contro Israele ma anche per la "punizione collettiva" dei palestinesi a Gaza. I critici hanno definito immorale l'appoggio di Eisen alla satira. Hanno chiesto a lui di dimettersi e agli autori di boicottare [eLife](#). Alcuni difensori hanno presentato una petizione all'**Howard Hughes Medical Institute**, l'editore di [eLife](#), per non punire l'editore, citando la libertà di parola accademica di Eisen.

Ma [eLife](#) lo ha licenziato, citando leadership e **comunicazione "dannosa"**.

Dopo aver preso il timone di [eLife](#) nel 2019, **Eisen**, critico di lunga data delle tradizionali riviste in abbonamento, ha introdotto politiche controverse, come la cessazione di accettare o rifiutare articoli; la rivista esegue la peer review dei manoscritti inviati a pagamento.